

307 / 12

Untersuchungen über das Verhalten der
2,3 Diphosphoglycerat-Konzentration im
Erythrozyten bei Hämodilution mit
makromolekularem Dextran unter hyperoxischen,
normoxischen und hypoxischen Bedingungen
an adultem Blut, Nabelschnur- und Hundeblut

Hans Werner Wefelscheid

1975

Aus der Kinderklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. med. K. Betke

Untersuchungen über das Verhalten der 2,3 Diphosphoglycerat-Konzentration im Erythrozyten bei Hämodilution mit makromolekularem Dextran unter hyperoxischen, normoxischen und hypoxischen Bedingungen an adultem Blut, Nabelschnur- und Hundeblut

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
vorgelegt einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von
Hans Werner Wefelscheid
aus
München

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent : Prof.Dr.K.Riegel

Korsferent: Priv.Doiz.K.Messmer

Dekan : Prof.Dr.W.Spann



Tag der mündlichen Prüfung: 11.3.1975

INHALT

A Einleitung	S. 1
B Methoden	S. 4
C Versuchsbeschreibung der in vitro-Versuche	S. 11
D Versuchsergebnisse der in vitro-Versuche und deren Diskussion	S. 14
I Adultes Blut	S. 19
II Nabelschnurblut	S. 20
III Hundeblut	S. 25
E Versuchsbeschreibung der in-vivo-Hundeversuche	S. 33
I Adulte Hunde, Schockversuche	S. 33
II Neugeborene Hunde, Hämodilutionsversuche	S. 34
F Versuchsergebnisse und Diskussion der in vivo-Versuche	S. 35
I Adulte Hunde, Schockversuche	S. 35
II Neugeborene Hunde, Hämodilutionsversuche	S. 37
G Zusammenfassung	S. 39
H Tabellen	S. 42
I Literaturverzeichnis	S. 59

A Einleitung

Die Volumensubstitution mit künstlichen Kolloiden ist ein fester Bestandteil der Behandlung von Schockzuständen geworden, kommt aber auch zur Anwendung bei einer Reihe von pathologischen Zuständen, die mit Störungen der Mikrozirkulation einhergehen, wie der Polyzythämia vera, dem Hyperviskositätssyndrom des Neugeborenen, (vgl. WALKER, MACKINTOSH 1), dem Myokardinfarkt (DITZEL 2), bei cerebralen Durchblutungsstörungen (GOTTSTEIN et al. 3), angeborenen Herzfehlern, hypoxischen Lungenkrankheiten und der Chirurgie am offenen Herzen. Der therapeutische Effekt liegt dabei nicht nur in der bei der Schockbehandlung gewünschten Behebung eines Volumendefizits, sondern hauptsächlich in der Senkung des Hämatokritwertes und der Blutviskosität, was ein Wiederingangbringen der Zirkulation im Bereich der Kapillaren und Venolen ermöglicht.

Der Vorteil gegenüber dem Einsatz natürlicher Kolloide in Form von menschlichem Vollplasma liegt in der Vermeidbarkeit serologischer Komplikationen und infusionsbedingter Infektionen (Hepatitis!), darüberhinaus sind künstliche Kolloide überall und sofort einsetzbar, sowie billig und in beliebigen Mengen herstellbar.

Unter den potentiellen Gefahren, die mit begrenzter Hämodilution einhergehen, muß zunächst ein Überschreiten der kardiorespiratorischen Kompensationsfähigkeit für die abnehmende Sauerstoffkapazität des Blutes in Erwägung gezogen werden (MESSMER et al. 4). Deshalb muß zum einen die Wiederherstellung des normalen zirkulierenden Blutvolumens gefordert werden, zum anderen sollte mit Ausnahme von Notfällen eine therapeutische Hämodilution nur bis zu einem Grenzwert des Hämatokrit, der für den Erwachsenen bei etwa 30 % angenommen wird, durchgeführt werden.

Experimentelle in vivo Untersuchungen (SUNDER-PLASSMANN et al. 5,6) haben ergeben, daß onkotisch aktive kolloidale Lösungen durch ihr Herabssetzen des Hämatokrit bis zu einem rheologischen Optimum von 30 % und der Blutviskosität eine Zunahme des postkapillären Stromzeitvolumens hervorrufen, wodurch der venöse Rückstrom gesteigert wird und es über eine vermehrte enddiastolische Füllung und erhöhte Faserspannung zu einem Anstieg des Schlagvolumens kommt. Die Steigerung des Herzminutenvolumens bewirkt infolge der Strömungsbeschleunigung im Bereich der Mikrozirkulation eine weitere Senkung der Viskosität, da durch zunehmende Desaggregation der Erythrocyten der Reibungskoeffizient kleiner wird. Die relative Sauerstofftransportkapazität, das Sauerstoffangebot also, welches pro Zeiteinheit dem Organismus zur Verfügung steht, erreicht bei Hämatokritwerten um 30 % gleichfalls ein Optimum, das signifikant über den für Normalhämatokritkonzentrationen gültigen Werten liegt. Der viskositäts-senkende Effekt kann jedoch nur dann voll zur Wirkung kommen, wenn trotz Blutverdünnung Normovolämie bestehen bleibt.

In der unseren Wissens bisher einzigen Untersuchung der Atmungsfunktion des Blutes unter dem Einfluß von kolloidalen Lösungen (KNORPP et al. 7), steht den oben beschriebenen, die Hämodynamik begünstigenden Einflüssen kolloidaler Lösungen entgegen die durch sie verursachte erschwerte Sauerstoffabgabe von Hämoglobin an die Gewebe. Durch Messungen des Sauerstoffhalbsättigungsdruckes (P_{50}) stellten Knorpp et al. beim hämorrhagischen Schock des Kaninchens 90-270 Min. nach Gabe einer Dextran- und Gelatinelösung einen signifikanten Anstieg der Sauerstoffaffinität des Hämoglobin fest.

BENESCH und BENESCH (8), sowie CHANUTIN und CURNISH (9) erkannten 1967, daß die Sauerstoffaffinität einer Hämoglobinlösung durch organische Phosphate, besonders durch 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) herabgesetzt wird, also die Sauerstoffentladungskapazität des Blutes gesteigert wird. Der Stoffwechsel des 2,3-DPG, eines Glykolysemetaboliten, der im Erythrozyten in äquimolarer Konzentration zum Hämoglobin vorliegt, stellt neben dem pH den wichtigsten Mechanismus dar, mit dem die Sauerstoffabgabe vom Hämoglobin an die Gewebe reguliert wird (OSKI 10).

Im Erythrocyten wird 2,3-DPG in einem Nebenweg der Glykolyse aus 1,3-Diphosphoglycerat in Gegenwart der 2,3-DPG Mutase synthetisiert. Das so gebildete 2,3-DPG kann unter der Wirkung der 2,3-DPG Phosphatase in 3-Phosphoglycerat und Phosphat hydrolysiert werden (s. Abb. 1). 2,3-DPG wird an desoxygenisiertes Hämoglobin gebunden, und zwar an den N-terminalen Aminogruppen und dem Histidin 143 der β -Ketten (OSKI et al. 10; BUNN und BRIEHL 11; PERUTZ 12). Erhöhte intraerythrocytäre 2,3-DPG Konzentrationen finden sich immer dann, wenn infolge einer Hypoxämie die Konzentration an desoxygeniertem Hämoglobin erhöht ist: bei zyanotischen Herzerkrankungen (OSKI et al. 13), chronischen Lungenkrankungen (OSKI et al. 14), chronischen Anämien (TORRANCE et al. 15), sowie nach Adaption an große Höhen (LENFANT et al. 16).

Abb. 1

aus Oski et al. 1970

Red cell, 2,3-DPG, and tissue oxygen release

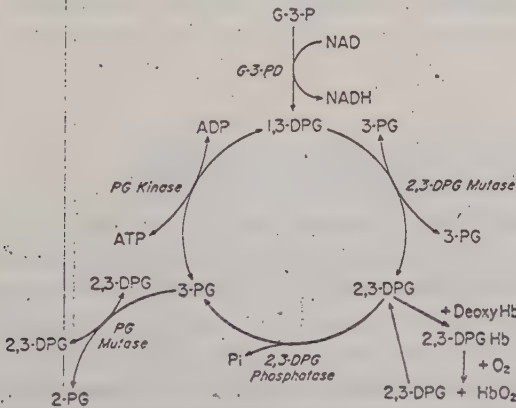


Fig. 2B. The 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) cycle in the human red cell. When 2,3-DPG is formed it can combine reversibly with deoxyhemoglobin, thus relieving the product inhibition of 2,3-diphosphoglycerate mutase (2,3-DPG mutase) and facilitating further synthesis of 2,3-DPG from 1,3-DPG. Abbreviations: G-3-P = glyceraldehyde-3-phosphate; G-3-PD = glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; 3-PG = 3-phosphoglycerate; 2-PG = 2-phosphoglycerate; P_i = inorganic phosphate; PG kinase = phosphoglycerate kinase; PG mutase = phosphoglycerate mutase.

Durch die infolge der erhöhten 2,3-DPG Konzentration bzw. verringerten Sauerstoffaffinität des Blutes bedingte Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve wird daher eine verstärkte Sauerstoffabgabe vom Hämoglobin bei höheren Sauerstoffpartialdrücken an die Gewebe ermöglicht.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit besteht darin, den Einfluß von Dextran 60 auf die intraerythrozytäre 2,3-DPG Konzentration zu untersuchen im Hinblick darauf, ob durch eine evtl. auftretende Steigerung der Sauerstoffaffinität, d.h. Verschlechterung der Sauerstoffversorgung der Gewebe, dem Einsatz makromolekularen Dextrans eine Grenze gesetzt ist. In-vitro-Untersuchungen wurden durchgeführt an humanen adultem Blut und Nabelschnurblut, das mit 24 %, 14,4 % und 5 % Sauerstoff equilibriert war, und an adultem Hundeblut, das mit 13,9 % Sauerstoff equilibriert war. Obwohl die Hämodilutionsbehandlung während der Neugeborenenperiode noch umstritten ist, erschien es uns sinnvoll, das Verhalten von Nabelschnurerythrozyten zu untersuchen, insbesondere da die Bindung von 2,3-DPG an fetales Hämoglobin wesentlich geringer ist als an adultes Hämoglobin (11, 13, 17, 18, 19).

In-vivo-Untersuchungen wurden durchgeführt an fünf adulten Hunden, deren Kreislauf nach einem experimentell ausgelösten Schock mit Dextran wieder aufgefüllt wurde, sowie an fünf neugeborenen Hunden, bei denen ein isovolämischer Austausch von Blut gegen Dextran vorgenommen wurde.

B Methoden

I. Messung der 2,3-Diphosphoglycerat Konzentration

Die 2,3-DPG Konzentration wurde enzymatisch bestimmt. 2,3-DPG ist ein Cofaktor der Phosphoglyceratmutase (PGM). Die PGM-Aktivität zeigt eine lineare Abhängigkeit vom 2,3-DPG bei niedriger Konzentration, sodaß die Messung der PGM-Aktivierung bezogen auf eine Standard Eichkurve zur Bestimmung der 2,3-DPG Konzentration zu verwenden ist. PGM wird nach BÜCHER et al. 1964 (20) gemessen, wobei das Reaktionsprodukt 2-Phosphoglycerat in Pyruvat überführt wird, das in der Indikatorreaktion unter Verbrauch von NADH zu L-Lactat reduziert wird.

Meßreaktion:

D-3-Phosphoglycerat $\xrightarrow{\text{2,3-Diphosphoglycerat}}$ D-2-Phosphoglycerat

Hilfsreaktion a:

D-2-Phosphoglycerat $\xrightarrow[\text{Mg}^{++}]{\text{Enolase}}$ Phosphoenolpyruvat + H₂O

Hilfsreaktion b:

Phosphoenolpyruvat + ADP $\xrightarrow[\text{Mg}^{++}, \text{K}^+]{\text{Pyruvat-Kinase}}$ Pyruvat + ATP

Indikatorreaktion:

Pyruvat + NADH+H⁺ $\xrightarrow{\text{Lactat-Dehydrogenase}}$ L-Lactat + NAD⁺

Testzusammensetzung:

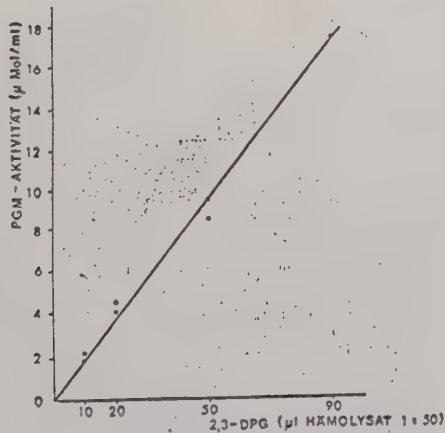
TRAP	50	mM	D-3-Phosphoglycerat	7	mM
EDTA	5	mM	Enolase	40	BE/ml Testvol.
KCl	75	mM	Pyruvat-Kinase	80	BE/ml Testvol.
MgSO ₄	8	mM	Lactat-Dehydrogenase	120	BE/ml Testvol.
NADH	0,22	mM	Phosphoglyceratmutase	0,01	BE/ml Testvol.
ADP	1	mM			

pH = 7,40;

T = 25°C;

Start mit 2,3-DPG 0,005 mM bzw. eines 1:50 Hämolysates. Das Hämolysat wurde durch Einbringen von 20 ml Vollblut in 980 ul aqua bidest hergestellt und bis zur Messung in der Tiefkühltruhe gelagert.

Abb. 2:



Abhängigkeit der Phosphoglyceratmutase-Aktivität in µMol/ml (PGM-Aktivität; Ordinate) von der Menge des zur Bestimmung der 2,3-DPG Konzentration eingesetzten Hämolysates 1:50 (Abszisse).

Exkurs zur Messung der 2,3-DPG-Konzentration:

bei der Auswertung der in vitro-Experimente ergab sich, daß Erythrozytensuspensionen mit einem Hämatokrit von 15 % sowohl gegenüber Vollblut als auch gegenüber Erythrozytensuspensionen mit Hämatokrit 45 % konstant eine höhere 2,3-DPG-Konzentration aufwiesen. Als Erklärung wäre theoretisch eine Störung des 2,3-DPG Testes insofern denkbar, als eine steigende Hämoglobin-Konzentration im Test zu einer zunehmenden Bindung des 2,3-DPG führt, das damit der Messung entzogen wird. Das hieße, daß bei den Proben mit dem Hämatokrit 45 % falsch zu tiefe Werte bestimmt würden. Inwieweit also der Anstieg der 2,3-DPG Konzentration auf einen Effekt des Hämoglobins zurückzuführen ist, konnten wir durch folgende Versuche ausschließen:

1. Der Einsatz von 1x20 μ l, 3x20 μ l und 4x20 μ l des gleichen Hämolyrates in den Test zur enzymatischen Bestimmung des 2,3-DPG führte zu einer linearen Abhängigkeit zwischen der 2,3-DPG Konzentration und der Menge des eingesetzten Hämolyrates. (Abb. 3)

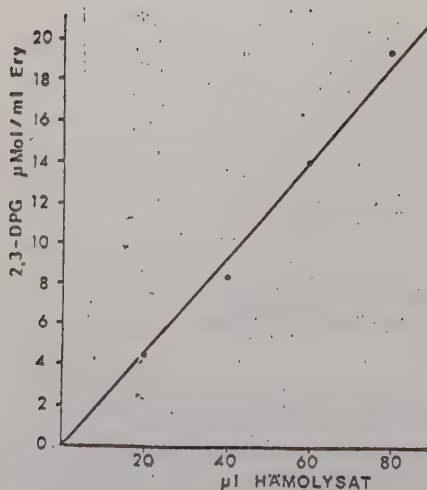
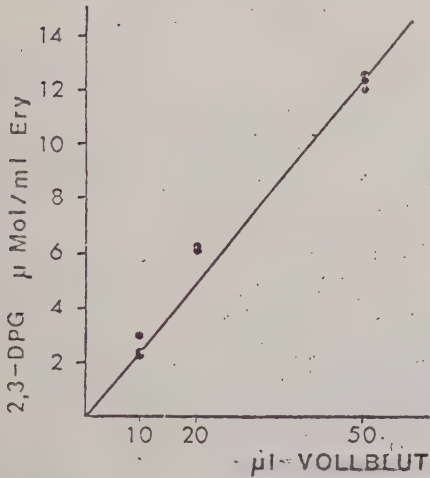


Abb. 3: Abhängigkeit der gemessenen 2,3-DPG Konzentration (2,3-DPG Ordinate) in μ Mol/ml Erythrocyten von der Menge des im Test eingesetzten 1:50 Hämolyrates. (Abszisse)

2. Diese lineare Korrelation ergab sich auch, wenn 10 μ l, 20 μ l und 50 μ l Vollblut mit aqua bidest auf 1000 μ l aufgefüllt wurden und aus dem Hämolysat das 2,3-DPG bestimmt wurde. (Abb. 4)

Abb. 4:



Abhängigkeit der gemessenen 2,3-DPG Konzentration (2,3-DPG Ordinate) in μ Mol/ml Erythrocyten von der steigenden Konzentration des in den Test eingesetzten Hämolyrates. (Abszisse) Einsatz jeweils 20 μ l Hämolysat.

3. Wir stellten in fünf Versuchen aus humanen, adulten Erythrozyten und Plasma bzw. Dextran 60 (Makrodex^R 6 % in 0,9 % NaCl-Lösung) folgende Suspensionen her und bestimmten die 2,3-DPG Konzentration:

Suspension 1:	Erythrozyten in Plasma, Hämatokrit 45 %,
Suspension 2:	" in Dextran, " 45 %,
Suspension 3:	" in Plasma, " 15 %,
Suspension 4:	" in Dextran, " 15 %.

Die verwendeten Erythrozyten waren folgendermaßen präpariert: nach Entnahme aus der Vene eines gesunden, erwachsenen Probanden mittels heparinisierter Spritze wurde das Blut 15 min bei 3000 U/min zentrifugiert, das Plasma abgetrennt, die auf dem Erythrozytenbrei liegende Schicht aus Leukozyten und Zelltrümmern abgesaugt, und der

Erythrozytenbrei in 0,9%iger eiskalter NaCl-Lösung unter Zugabe von 0,8 M Glukose dreimal gewaschen. Zur Kontrolle bestimmten wir die 2,3-DPG-Konzentration des Vollbluts, des Erythrozytenbreis vor dem ersten und nach dem letzten Waschen.

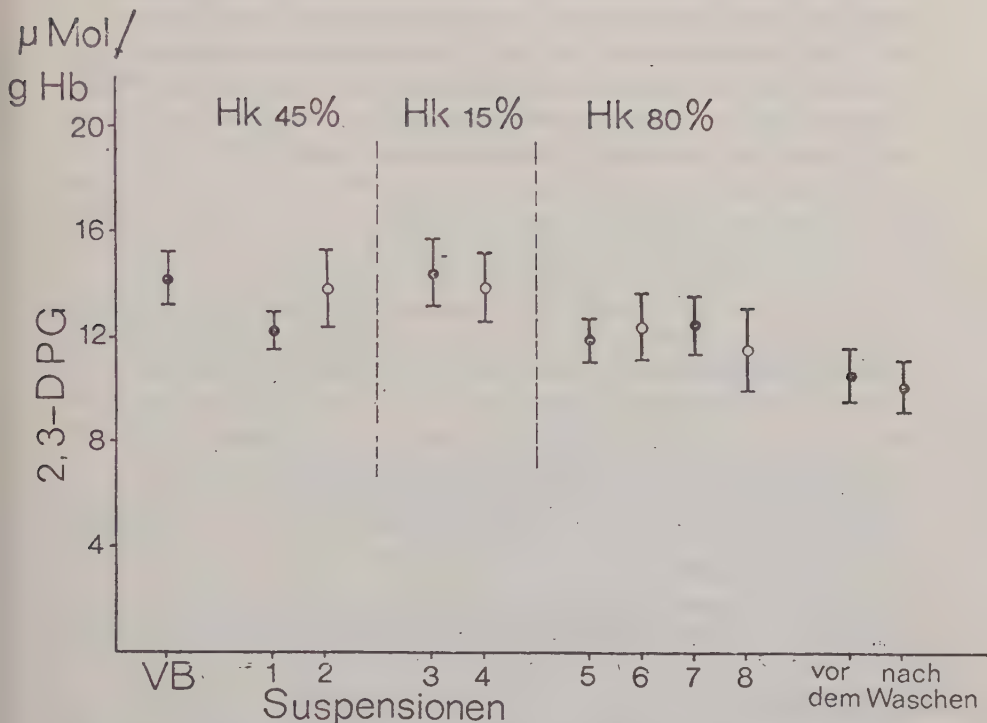
Jede der so präparierten Suspensionen 1 - 4 wurde nach Entnahme der notwendigen Testmenge 15 min bei 3500 U/min zentrifugiert, der Überstand abgesaugt. Damit erhielten wir die Suspensionen 5 - 8, die einen Hämatokritwert zwischen 80 und 90% aufwiesen. Von diesen wurde wiederum die 2,3-DPG-Konzentration bestimmt. Zu jeder DPG-Messung wurden außerdem ermittelt die Hämoglobinkonzentration, der Hämatokritwert, die Erythrozytenanzahl/mm³, das mittlere Zellvolumen, sowie der pH-Wert (letzteres war bei einigen Suspensionen der Gruppen 5 - 8 aus technischen Gründen nicht möglich).

Die Ergebnisse sind in der Abb. 5 und der Tabelle 1 zusammengefaßt. Im einzelnen ergab sich:

- a) wie aus Abb. 5 ersichtlich, zeigten die Suspensionen 2 - 4 in etwa gleiche Mittelwerte der 2,3-DPG-Konzentration (Suspension 2: 13,88 μ Mol 2,3 DPG/g Hb; S.3: 14,60; S.4: 13,99), die dem des Vollbluts entsprach (14,17). Lediglich Suspension 1 zeigt im Mittelwert eine etwas niedrigere 2,3-DPG-Konzentration (S.1: 12,28); dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant.
- b) die Suspensionen 5 - 8 zeigen untereinander fast gleich große Mittelwerte der 2,3-DPG-Konzentrationen (S.5: 12,06; S.6: 12,55; S.7: 12,64; S.8: 11,69), die etwas tiefer liegen als die von Vollblut und von den Suspensionen 2 - 4, und in gleicher Höhe liegen wie die von Suspension 1. Auch hier zeigten sich keine signifikanten Unterschiede, weder zwischen den einzelnen Suspensionen untereinander noch zwischen den einzelnen Suspensionen der Gruppe 5 - 8 und denen der Gruppe 1 - 4.
- c) die 2,3-DPG-Konzentrationen des Erythrozytenbreis vor und nach dem Waschen liegen tiefer als die sämtlicher übrigen Suspensionen. Eine Ursache dafür ist uns noch nicht bekannt.

Der bei der Auswertung der in vitro-Versuche gefundene Unterschied in der 2,3-DPG-Konzentration zwischen Erythrozytensuspensionen mit Hämatokrit 45% und solchen mit Hämatokrit 15% tritt zwar in der Tendenz auch in der eben beschriebenen Versuchsreihe auf, ist jedoch hier weniger deutlich und eindeutig nicht signifikant. Die Verschieden-

Abb. 5:



Ordinats: 2,3-DPG-Konzentration in $\mu\text{Mol/g Hb}$,

Mittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte, $n = 5$

Abszisse: untersuchte Erythrozytensuspension: VB = Vollblut,

1 u. 3 = in Plasma suspendierte Erythrozyten ($\bullet$);

2 u. 4 = in Dextran suspendierte Erythrozyten ($\circ$);

5 - 8 = dieselben Suspensionen in gleicher Reihenfolge

nach Zentrifugieren und Absaugen des Überstandes;

vor Waschen, nach Waschen = zentrifugierter Erythrozytenbrei nach

Absaugen des Überstandes vor und nach dem Waschen in 0,9% NaCl

heit der DPG Konzentrationen von Suspensionen mit unterschiedlichem Hämatokrit läßt sich somit nur teilweise auf Störungen des enzymatischen Meßvorgangs zurückführen. Die Mittelwerte der 2,3-DPG-Konzentrationen von Suspensionen mit Hk 15 % liegen um 7 % höher als die Mittelwerte der 2,3-DPG-Konzentrationen von Suspensionen mit Hk 45 %. Vergleicht man nur die Mittelwerte der DPG-Konzentrationen der Suspensionen 1 und 3, so beträgt dieser Unterschied sogar 14 %.

II. Korrelation zwischen 2,3 DPG und O_2 Affinität

Wie in der Einleitung dargelegt, wird die O_2 Affinität des Blutes im wesentlichen vom Hämoglobintyp, vom pH-Wert und der 2,3-DPG-Konzentration bestimmt. Untersuchungen in diesem Labor (SEIFERT 21; OLBRICH 22; VERSMOLD et al. 23) ergaben eine straffe Korrelation zwischen 2,3 DPG und dem P_{50} -Wert des Blutes, das ist der O_2 Partialdruck bei 50 % O_2 -Sättigung, $37^\circ C$ und pH 7,4. Damit können die P_{50} -Werte anhand der 2,3-DPG-Konzentration rechnerisch ermittelt werden. Die Regressionsgleichungen lauten (SEIFERT 21)

für Erwachsenenblut:

$$P_{50} \text{ (Torr)} = 1,5697 (\pm 0,8095) \text{ 2,3 DPG (mM)} + 20,7165$$

für Nabelschnurblut:

$$P_{50} \text{ (Torr)} = 0,9363 (\pm 0,9106) \text{ 2,3 DPG (mM)} + 18,3842$$

III. Bestimmung von HbF

Die Bestimmung von Hämoglobin F wurde nach der Methode von Betke et al. 1959 (24) mittels Alkalidenaturierung durchgeführt. HbF wird durch NaOH etwa 100mal langsamer denaturiert als HbA₁ und HbA₂. Auf diesem Unterschied beruht der Nachweis von HbF.

Ausführung:

Aus einem konzentrierten Hämolysat wird durch Verdünnung mit $K_3 Fe(CN)_6$ -KCN-Lösung eine etwa 500 mg-%ige CN-Met-Hb-Lösung hergestellt. Nach 30 Minuten ist das Hb umgewandelt. 2,8 ml dieser CN-Met-Hb-Lösung werden bei $20^\circ C$ im Wasserbad mit 0,2 ml einer 1,2 n NaOH versetzt. Nach genau 2 Minuten wird der Denaturierungsprozeß durch rasche Zugabe von 2,0 ml Ammonsulfat unterbrochen. Der ganze Ansatz weist nachher eine 40% Sättigung von Ammonsulfat auf.

Dadurch wird das als alkalisches Hämatoglobulin bezeichnete Denaturierungsprodukt ausgefällt, während nicht-denaturiertes Hämoglobin in Lösung bleibt. Nach Entfernung des Präcipitats durch Filtrieren wird die Hämoglobin-Konzentration des Filtrats bei 540 nm im Spektrophotometer gemessen. Zur Bestimmung der Ausgangskonzentration wird eine Verdünnung von 0,4 ml Hämoglobinlösung und 6,75 ml aqua dest. gemessen, die ein zehnmal größeres Verdünnungsverhältnis aufweist als der Ansatz. Aus den erhaltenen Extinktionswerten kann HbF direkt in Prozent errechnet werden. Verglichen mit der säulenchromatographischen Hb-Bestimmung ergibt diese Methode um etwa 15 % zu niedrige Werte.

IV. Bestimmung des Hämatokrit

Zur Bestimmung des Hämatokrit wurde eine Christ Mikrohämatokrit-zentrifuge verwendet, die mit einer Beschleunigung von über 10 000 g arbeitet.

V. Die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration und des mittleren Erythrozytenvolumens (MCV) erfolgte mittels Coulter-Counter im Hämatologielabor der Universitätskinderklinik.

Aus dem Hämatokritwert und der Hämoglobinkonzentration wurde die mittlere corpuskuläre Hb-Konzentration (MCHC) berechnet.

Alle Meßdaten sind Mittelwerte von Doppel- bzw. Mehrfachbestimmungen. Die statistischen Berechnungen erfolgten nach der Anweisung der Documenta Geigy, wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage, mit Hilfe eines Diehl Tisch Computers, Combitron S.

C Versuchsbeschreibung der in vitro-Versuche

Zu jedem Versuch waren etwa 12 ml Blut erforderlich. Das adulte Blut wurde mit Einmalspritzen, deren Totraum mit Heparin (Liquemin 5000) gefüllt war, aus einer peripheren Vene entnommen und sofort verwertet. Das Nabelschnurblut wurde in Citrat (3,8 %) enthaltende Behältern bis zum Verhältnis 10:1 aufgefüllt und lagerte höchstens 8 Stunden bei 4°C. Das Blut wurde 10-15 Min. bei Zimmertemperatur und 3500 U/Min. zentrifugiert. Anschließend wurde das Plasma von den Erythrozyten getrennt, die auf den Erythrozyten liegende lockere Schicht aus Zelltrümmern und Leukozyten abgesaugt.

Bei den Versuchen mit humanem Blut wurden die abgetrennten Erythrozyten in einer 0,9 %igen eiskalten NaCl-Lösung unter Zugabe von 0,8 M Glukose dreimal gewaschen.

Danach wurden die Erythrozyten mit Plasma auf einen Hämatokrit von 45 % (eine Probe, im folgenden bezeichnet als Plasmasuspension), sowie mit Dextran 60 (Makrodex^R 6% in 0,9% NaCl-Lösung) auf einen Hämatokrit von 15% (zwei Proben, im folgenden bezeichnet als Dextransuspension) eingestellt, und in Kugeltonometern im Wasserbad bei 37°C inkubiert. Die Inkubationsbedingungen sind im einzelnen in der Tabelle 2 aufgeführt. Der CO₂-Anteil des zugeführten Gasgemisches wurde so gewählt, daß der unkorrigierte pH-Wert nicht über 7,5 lag. Pro ml Erythrozytensuspension wurden zu Inkubationsbeginn 12 µMol Glukose zugefügt.

Bei den mehr als 3 h laufenden Versuchen wurde zu Anfang, nach 3 h und nach 6 h jeweils nach Entnahme der Proben je 20 µMol Glukose pro ml Erythrozytensuspension zugefügt.

Abweichungen vom pH-Wert 7,40, die größer als 0,10 pH-Einheiten waren, wurden durch Zugabe von 1 M NaHCO₃-Lösung korrigiert.

Zu folgenden Zeiten wurden der pH-Wert, die intraerythrozytäre 2,3-DPG-Konzentration, der Hämatokrit, die Hb-Konzentration und das MCV bestimmt und das MCHC berechnet:

1. nach der Blutentnahme (Vollblut = VB)
2. im Tonometer zur Zeit $t = 0$ h
3. " " " " $t = 1$ h
4. " " " " $t = 2$ h
5. " " " " $t = 3$ h
- (6. " " " " $t = 6$ h)
- (7. " " " " $t = 12$ h)

Tabelle 2: VERSUCHSPROGRAMM DER IN VITRO-VERSUCHE

humanes Blut	Erythrocyten- Suspension in:	Hk (%)	n	Equilibriert mit einem Gasgemisch aus:	Inkubationsdauer
adulte Erythrocyten	Plasma	45	3	24%O ₂ , 4%CO ₂ , 72%N ₂	3 Stunden
"	Dextran	15	6	" " "	3 "
"	Plasma	45	2	14,4%O ₂ , 4%CO ₂ , 81,6%N ₂	3 "
"	"	45	3	" " "	12 "
"	Dextran	15	4	" " "	3 "
"	"	15	6	" " "	12 "
"	Plasma	45	3	5%O ₂ , 3,8%CO ₂ , 91,2%N ₂	3 "
"	Dextran	15	6	" " "	3 "
Nabelschnur- Erythrocyten	Plasma	45	3	24%O ₂ , 4%CO ₂ , 72%N ₂	3 "
"	Dextran	15	6	" " "	3 "
"	Plasma	45	3	14,4%O ₂ , 4%CO ₂ , 81,6%N ₂	3 "
"	Dextran	15	6	" " "	3 "
"	Plasma	45	3	5%O ₂ , 3,8%CO ₂ , 91,2%N ₂	3 "
"	Dextran	15	6	" " "	3 "
Hundebhut	Plasma	45	3	13,9%O ₂ , 7,5%CO ₂ , 68,6%N ₂	6 "
adulte Erythrocyten	Dextran	15	6	" " "	6 "

D Versuchsergebnisse der in vitro-Versuche und deren Diskussion

I ADULTES BLUT

1. Äquibriert mit 24% Sauerstoff

Die Resultate sind in Abb. 6 und in den Tabellen 3,4,5 zusammengefaßt.

2. Äquibriert mit 14,4% Sauerstoff

Resultate in Abb. 7 und den Tabellen 6-10 zusammengefaßt.

3. Äquibriert mit 5%-Sauerstoff

Resultate in Abb. 8 und den Tabellen 11,12,13 zusammengefaßt.

Im einzelnen zeigte sich für adulte Erythrozyten folgendes:

a) Vollblut: die Ausgangswerte der intraerythrozytären 2,3-DPG-Konzentration (VB) waren bei der Serie mit

24 % O_2 : 11,70 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

14,4% O_2 : 12,18 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

5 % O_2 : 13,97 $\mu\text{Mol/g Hb}$.

Somit liegen sie im Bereich der von OSKI (13) ermittelten Ergebnisse ($4,47 \pm 0,59 \mu\text{Mol/ml Ery}$, entspricht $13,41 \pm 1,77 \mu\text{Mol/g Hb}$ bei $\text{MCHC} = 33 \text{ g\%}$), sind jedoch etwas tiefer als die von OLBRICH (22) gefundenen Werte (5,1 $\mu\text{Mol/ml Ery}$ entspricht 15,3 $\mu\text{Mol/g Hb}$).

b) Suspensionen aus Erythrozyten in Plasma mit einem Hämatokrit von 45 %, im folgenden Plasmasuspension:

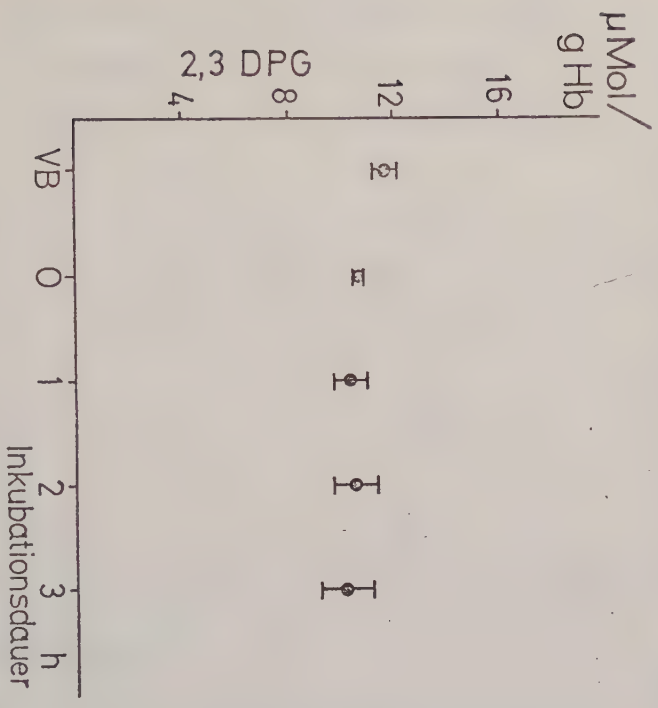
- i. wie auch in der Arbeit von OLBRICH (22) beobachtet, lagen die 2,3-DPG-Konzentrationen der Plasmasuspensionen zu Beginn des Inkubierens ($t = 0 \text{ h}$) bei allen drei Serien tiefer als die entsprechenden 2,3-DPG-Konzentrationen des Vollbluts. Zwischen beiden Meßpunkten war das Blut zentrifugiert und die Erythrozyten dreimal gewaschen worden. Im einzelnen betrug der Abfall während der Präparation der Erythrocytensuspensionen bei der Serie mit

24 % O_2 : 8,6% (von 11,70 auf 10,68 $\mu\text{Mol/g Hb}$)

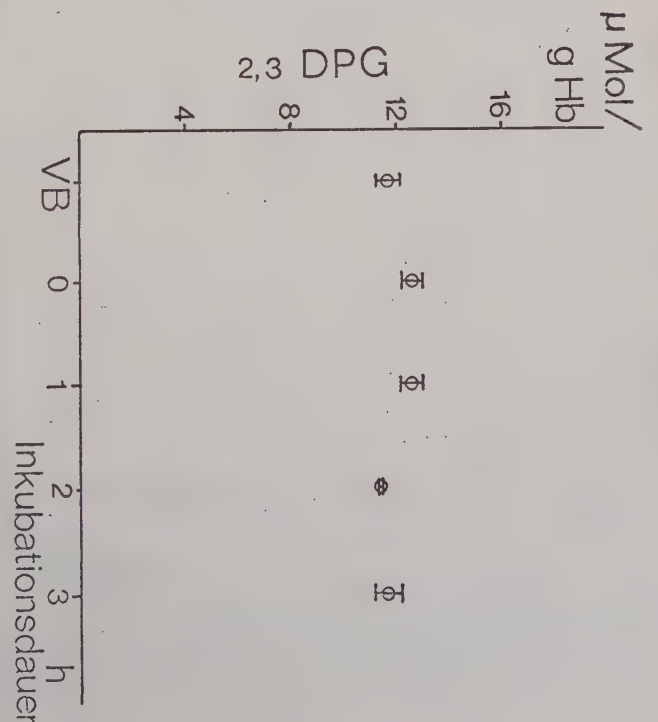
14,4% O_2 : 11,8% (von 12,18 auf 10,74 $\mu\text{Mol/g Hb}$)

5 % O_2 : 6,8% (von 13,97 auf 13,02 $\mu\text{Mol/g Hb}$).

Abb. 6: Adultes Blut, equilibriert mit 24% Sauerstoff



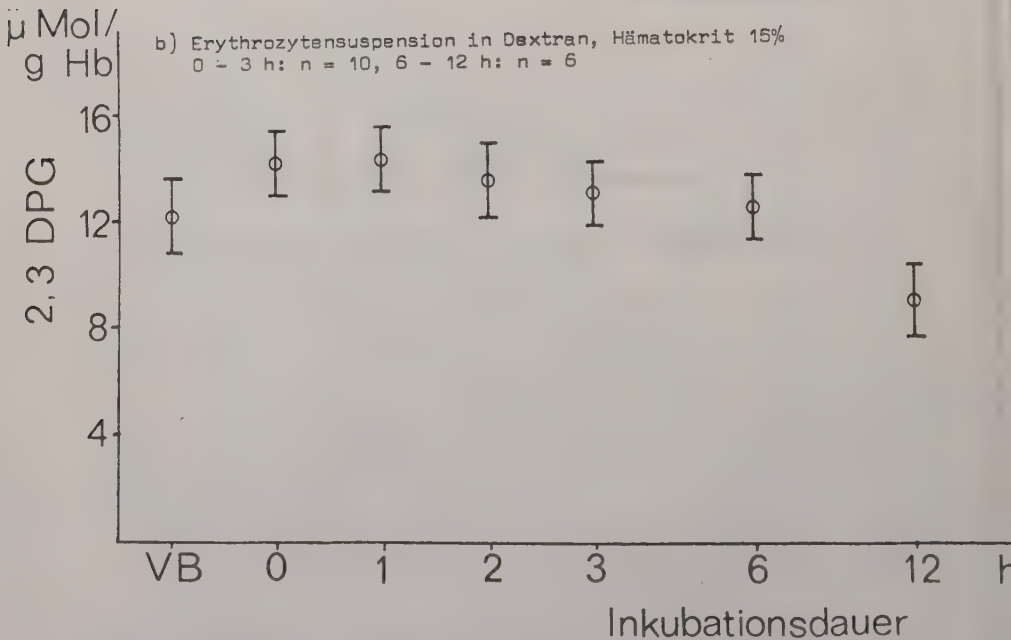
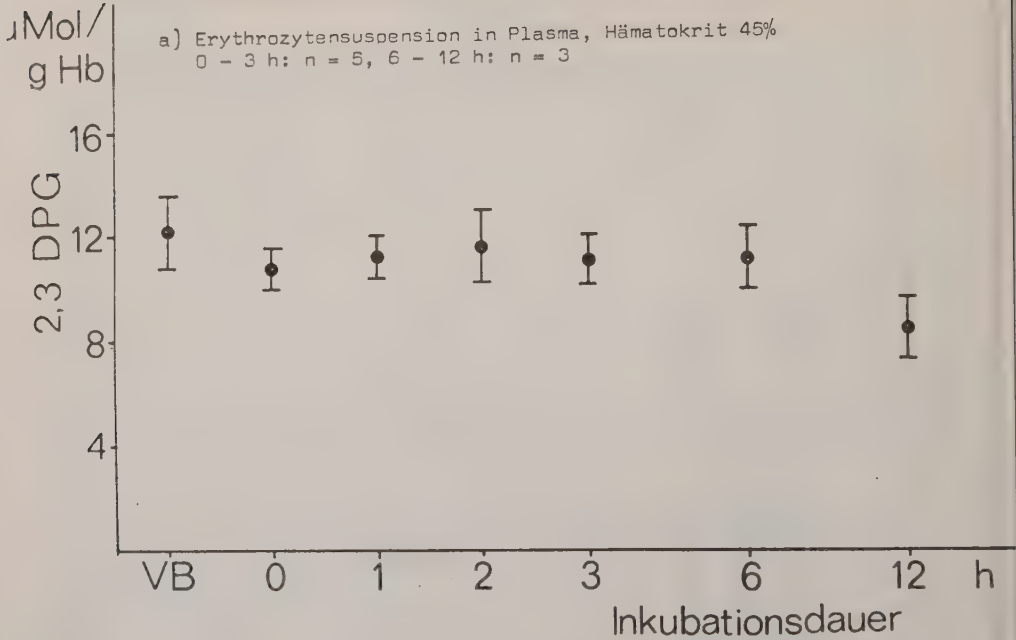
a) Erythrozytensuspension in Plasma, Hämatokrit 45%,
 $n = 3$ (●)



b) Erythrozytensuspension in Dextran, Hämatokrit 15%,
 $n = 6$ (○)

Ordinate: 2,3DPG-Konzentration in $\mu\text{Mol/g Hb}$, Mittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte
Abszisse: Zeitpunkt der Messung, VB = Vollblut, 0 = im Tonometer zur Zeit $t = 0$ Stunden und nach 1, 2 und 3 Stunden

Abb. 7: Adultes Blut, Äquilibriert mit 14,4% Sauerstoff



Ordinate: Gemessene 2,3-DPG-Konzentration in uMol/g Hb

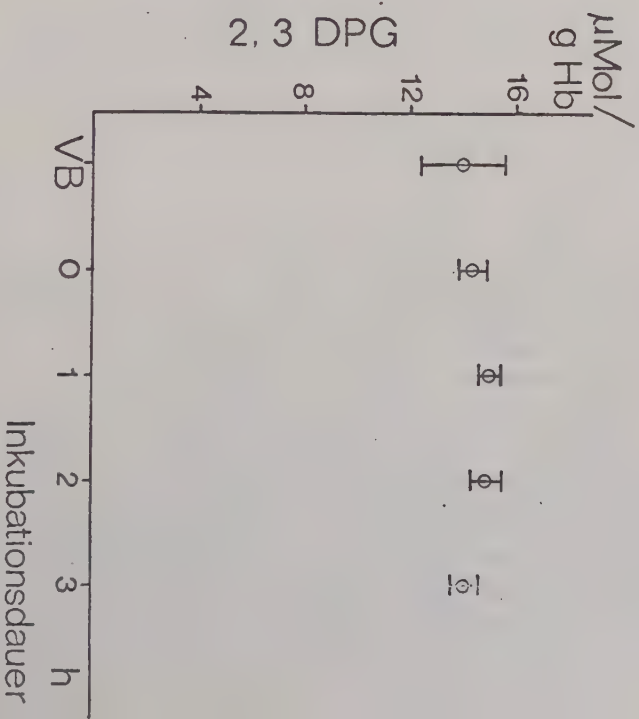
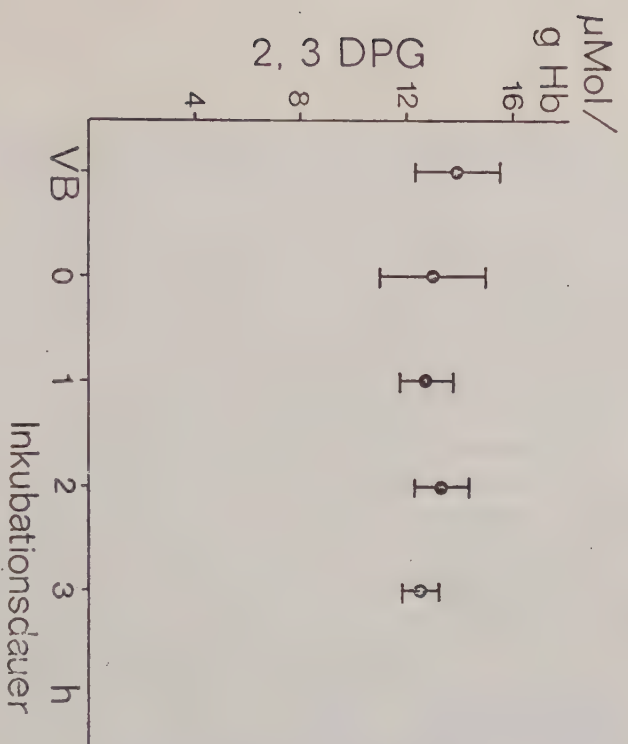
Mittelwerte ± mittlere Streuung der Einzelwerte

Abzisse: Zeitpunkt der Messung, VB = Vollblut,

0 = im Tonometer zur Zeit t = 0 Stunden und nach

1, 2, 3, 6 und 12 Stunden

Abb. 8: Adultes Blut, äquilibriert mit 5% Sauerstoff



a) Erythrozytensuspension in Plasma, Hämatokrit 45%,
 $n = 3$ (●)

Ordinate: 2,3-DPG-Konzentration in $\mu\text{Mol/g Hb}$, Mittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte

Abszisse: Zeitpunkt der Messung, VB = Vollblut, 0 3 im Tonometer zur Zeit $t = 0$ Stunden und nach 1, 2 und 3 Stunden

b) Erythrozytensuspension in Dextran, Hämatokrit 15%,
 $n = 6$ (○)

- ii. die DPG-Konzentrationen der Plasmasuspensionen bleiben bei den 3-Stunden-Versuchen über die ganze Versuchsdauer, bei den 12-Stunden-Versuchen bis zum Zeitpunkt $t = 6$ h konstant, und zwar beim Tonometrieren mit 24% und 14,4% O_2 , als auch mit 5% O_2 . Die Mittelwerte der zu den einzelnen analogen Versuchszeitpunkten bestimmten 2,3-DPG-Konzentrationen schwankten im Verlauf der Versuche bei der Serie mit

24 % O_2 : zwischen 10,68 und 10,19 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

14,4% O_2 : " 11,57 und 10,74 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

5 % O_2 : " 13,33 und 12,72 $\mu\text{Mol/g Hb}$.

Bei den 12-Stunden-Versuchen mit 14,4% O_2 erfolgte zwischen den Meßpunkten $t = 6$ h und $t = 12$ h ein 2,3-DPG-Abfall von im Mittel 11,09 auf 8,42 $\mu\text{Mol/g Hb}$, der vermutlich auf Schwierigkeiten bei langen Inkubationszeiten (pH-Inkonstanz, Abfall des Glukosespiegels) zurückzuführen ist.

Die gegenüber den Serien mit 24 und 14,4% O_2 höheren Werte der Serie mit 5% O_2 sind auf die höhere 2,3-DPG-Konzentration des Ausgangsblutes zurückzuführen.

c) Suspensionen aus Erythrozyten in Dextran 60 mit einem Hämatokrit von 15%, im folgenden bezeichnet als Dextransuspensionen:

- i. die DPG-Konzentrationen der Dextransuspensionen liegen zum Zeitpunkt $t = 0$ h höher als die Konzentrationen im Vollblut, und zwar bei der Serie mit

24 % O_2 : um 8,0 %,

14,4% O_2 : um 11,3 %,

5 % O_2 : um 2,8 %.

- ii. die Mittelwerte der zu den einzelnen analogen Versuchszeitpunkten bestimmten 2,3-DPG-Konzentrationen der Dextransuspensionen schwanken in den ersten drei Stunden bei der Serie mit

24 % O_2 zwischen 12,63 und 11,32 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

14,4% O_2 " 14,32 und 13,07 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

bzw. 12,54 bei 6 h und 8,99 bei 12 h,

5 % O_2 " 15,02 und 14,02 $\mu\text{Mol/g Hb}$.

Bei der Serie mit 24% O_2 (Abb. 6) erfolgt zwischen 0 h und 3 h ein geringfügiger 2,3-DPG-Abfall um 1,01 $\mu\text{Mol/g Hb}$ (8,0%), ebenso bei der Serie mit 14,4% O_2 (Abb. 7) um 1,07 $\mu\text{Mol/g Hb}$ (7,5%); hingegen steigen bei der Serie mit 5% O_2 (Abb. 8) die Werte in der ersten Stunde um 0,67 $\mu\text{Mol/g Hb}$ (14,4%), um in der zweiten Stunde um

0,20 (1,3%) und in der dritten Stunde um 0,60 $\mu\text{Mol/g Hb}$ (4,0%) abzufallen.

Man könnte zur Erklärung annehmen, daß das vorliegende 2,3 DPG in Erythrozyten bei konstant hohen Sauerstoffdrücken abgebaut wird, da das oxygenierte Hämoglobin kein DPG bindet, also das DPG in freier Form zur Produktinhibition der 2,3-DPG-Mutase führt und somit eine Neuproduktion von 2,3-DPG verhindert, wohingegen die Stoffwechselwege des Abbaus von 2,3-DPG nicht blockiert sind. Unter dieser Annahme könnte man bei den Dextransuspensionen der Serie mit 5% O_2 ein Ingangkommen der 2,3-DPG-Produktion aus dem Kurvenverlauf deuten, da hier Deoxyhämoglobin DPG bindet, was die Produktinhibition erschwert. Jedoch verwundert das Fehlen eines analogen Kurvenverlaufs der Plasmasuspensionen, weiterhin sind die hier beschriebenen Veränderungen viel zu gering, um eine Interpretation in diesem Sinne zu sichern.

Ebenso wie bei den Plasmasuspensionen (vgl. Punkt I b) ii. und Abb. 7) trat bei den Dextransuspensionen der Serie mit 14,4% O_2 von der 6. - 12. Stunde ein Abfall der DPG-Konzentrationen auf, hier von 12,54 auf 8,99 $\mu\text{Mol/g Hb}$, der auch auf Inkubationsbedingungen (pH-Inkonstanz, Abfall des Glukosespiegels) zurückzuführen sein könnte.

- iii. die DPG-Werte der Dextransuspensionen (Hk 15%) liegen allgemein höher als die Werte der Plasmasuspensionen (Hk 45%), und zwar bei der Serie mit

24 % O_2 um durchschnittlich 15%,

14,4% O_2 " " 22% in den ersten 3 h, 19% in 12 h,

5 % O_2 " " 15%, insgesamt also um 17,8%.

Eine Erhöhung der DPG-Konzentrationen von mit Plasma auf Hämatokrit 15% diluiertem Blut gegenüber Blut mit Hk 45% um 26% wurde von OLBRICH (22) gefunden. Ebenso fanden wir bei methodischen Untersuchungen in Erythrozytensuspensionen in Plasma mit Hämatokrit 15% um 14% (nicht signifikant) höhere 2,3-DPG-Konzentrationen als in Suspensionen mit Hämatokrit 45% (vgl. Abb.5). Deshalb muß der von uns gefundene Anstieg nicht eindeutig auf die Wirkung von Dextran 60 zurückgeführt werden.

II NABELSCHNURBLUT

1. Äquibriert mit 24% Sauerstoff

Die Resultate sind in Abb. 9 und in den Tabellen 14, 15, 16 zusammengefaßt.

2. Äquibriert mit 14,4% Sauerstoff

Resultate in Abb. 10 und den Tabellen 17, 18, 19 zusammengefaßt.

3. Äquibriert mit 5% Sauerstoff

Resultate in Abb. 11 und den Tabellen 20, 21, 22 zusammengefaßt.

Im einzelnen ergab sich für Nabelschnurerythrozyten folgendes:

a) Vollblut: die Ausgangswerte der intraerythrozytären 2,3-DPG-Konzentration (VB) betragen bei der Serie mit

24 % O_2 : 14,19 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

14,4% O_2 : 17,28 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

5 % O_2 : 14,79 $\mu\text{Mol/g Hb}$.

Sie liegen um 25% höher als unsere Werte für adultes Blut und stimmen damit mit den Ergebnissen anderer Autoren (OSKI 13, OLBRICH 26) überein.

b) Suspensionen aus Nabelschnurerythrozyten in Plasma mit einem Hämatokrit von 45%, im folgenden als NS-Plasmasuspension bezeichnet:

- i. wie auch bei adultem Blut beobachtet, waren bei Nabelschnurblut zu Inkubationsbeginn die DPG-Konzentrationen der NS-Plasmasuspensionen tiefer als die für Vollblut gemessenen Konzentrationen. Auch hier sind zwischen den beiden Meßpunkten das Blut zentrifugiert und die Erythrozyten dreimal gewaschen worden. Im einzelnen sanken die Werte bei der Serie mit

24 % O_2 : um 6,8% von 14,19 auf 13,23 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

14,4% O_2 : um 10,1% von 17,28 auf 15,53 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

5 % O_2 : um 8,8% von 14,70 auf 13,50 $\mu\text{Mol/g Hb}$.

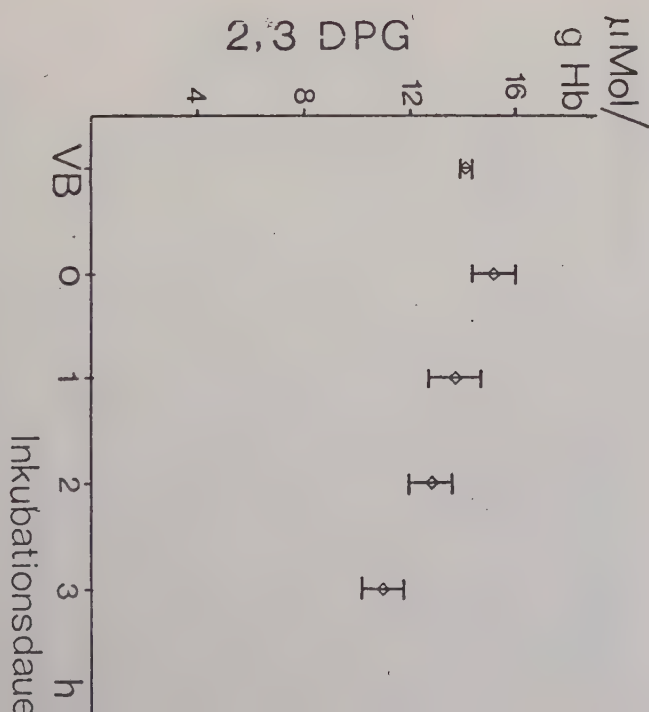
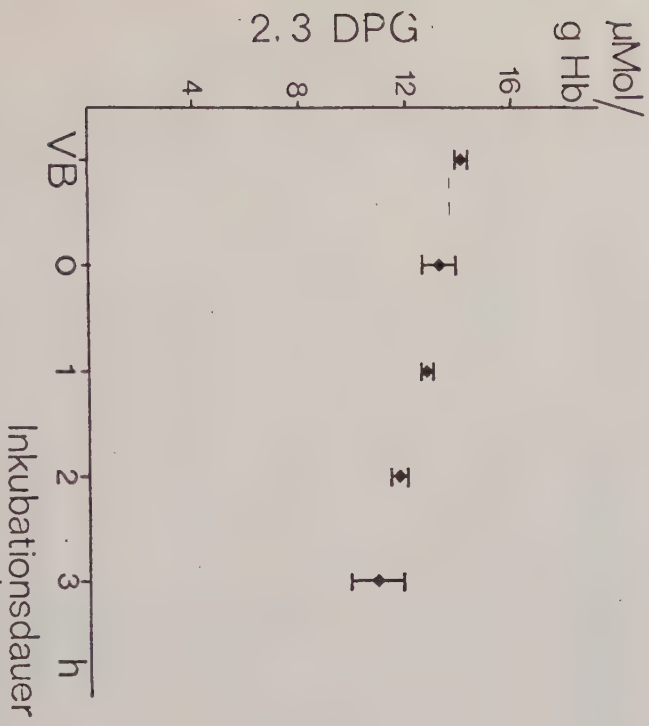
- ii. die DPG-Werte der NS-Plasmasuspensionen sanken im Verlauf von 3 Stunden bei der Serie mit

24 % O_2 : um 17,9% von 13,23 auf 10,68 $\mu\text{Mol/g Hb}$ (kontinuierlich),

14,4% O_2 : um 22,1% von 15,53 auf 12,09 $\mu\text{Mol/g Hb}$ (kontinuierlich),

5 % O_2 : um 4,1% von 13,50 auf 12,95 $\mu\text{Mol/g Hb}$, hier erst nach einer Stunde und sehr geringfügig. Man könnte auch hier (vgl. Punkt I c) ii.) einen Abbau von 2,3-DPG bei konstant hohen Sauerstoff-

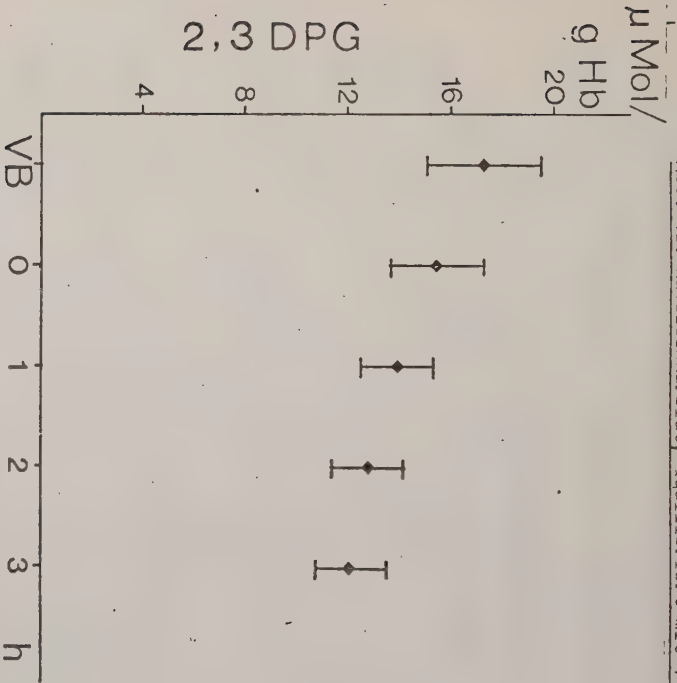
Abb. 2: Nabelschnurblut, äquilibriert mit 24% Sauerstoff



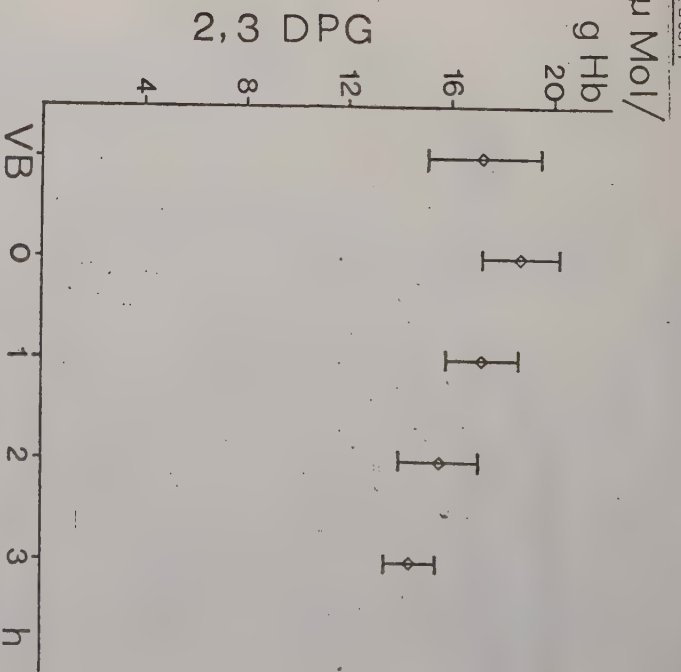
a) Erythrozytensuspension in Plasma, Hämatokrit 45%,
 $n = 3$ ($\diamond$)

b) Erythrozytensuspension in Dextran, Hämatokrit 15%,
 $n = 6$ ($\diamond$)

Ordinate: Gemessene 2,3-DPG-Konzentration in $\mu\text{Mol/g Hb}$, Mittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte
 Abszisse: Zeitpunkt der Messung, VB = Vollblut, 0 = im Tonometer zur Zeit $t = 0$ Stunden und nach 1, 2 und 3 Stunden



Inkubationsdauer

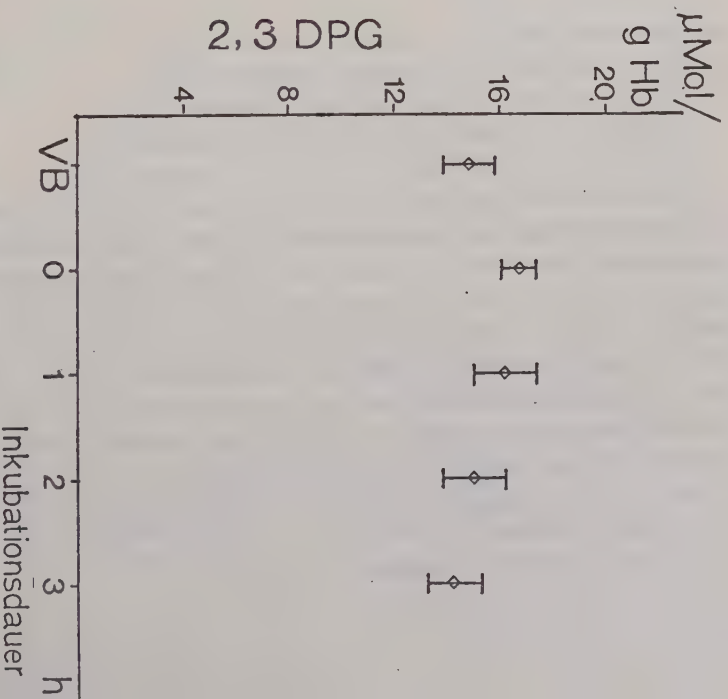
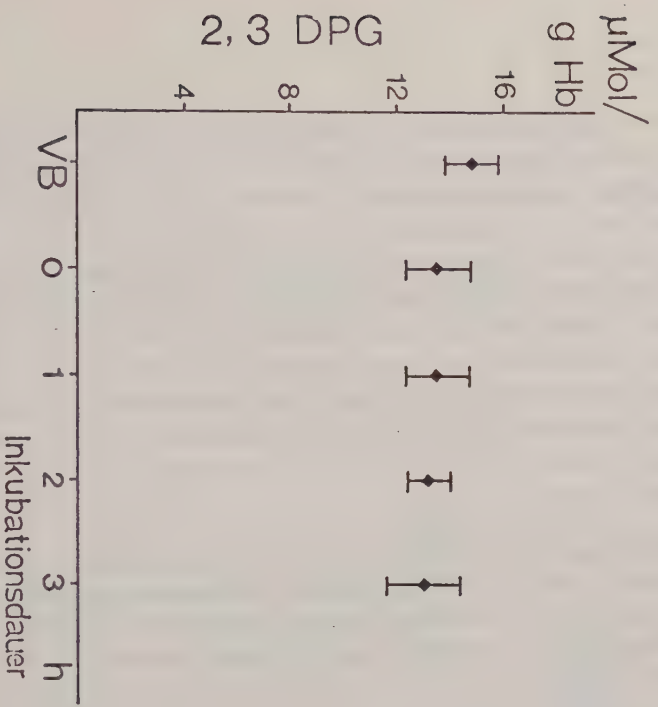
a) Erythrozytensuspension in Plasma, Hämatokrit 45%,
 $n = 3$ ($\diamond$)

Inkubationsdauer

b) Erythrozytensuspension in Dextran, Hämatokrit 15%,
 $n = 6$ ($\diamond$)

Ordinate: Gemessene 2,3-DPG-Konzentration in $\mu\text{Mol/g Hb}$, Mittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte
 Abszisse: Zeitpunkt der Messung, VB = Vollblut, 0 = im Tonometer zur Zeit $t = 0$ Stunden und nach 1, 2 und 3 Stunden

Abb. 11: Nabelschnurblut, äquilibriert mit 5% Sauerstoff



a) Erythrozytensuspension in Plasma, Hämatokrit 45%,
 $n = 3$ ($\diamond$)

b) Erythrozytensuspension in Dextran, Hämatokrit 15%,
 $n = 6$ ($\diamond$)

Ordinate: Gemessene 2,3-DPG-Konzentration in $\mu\text{Mol/g Hb}$, Mittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte
 Abszisse: Zeitpunkt der Messung, VB = Vollblut, 0 = im Tonometer zur Zeit $t = 0$ Stunden und nach 1, 2 und 3 Stunden

drucken annehmen, der nicht durch Synthese ausgeglichen wird, da das sauerstoffgesättigte Hämoglobin das DPG nicht bindet, wodurch es zur Produktinhibition der 2,3-DPG-Mutase kommt. Hingegen tritt dieser Effekt bei Anwesenheit von Deoxyhämoglobin nicht in diesem Maße auf, weshalb bei niedrigen Sauerstoffdrucken der Abfall im Kurvenverlauf geringer ist. Es verwundert jedoch, daß dieser Effekt bei den Plasmasuspensionen des adulten Bluts nicht zu finden ist, obwohl desoxygeniertes adultes Hämoglobin 2,3-DPG wesentlich besser bindet als fetales. Ferner steht diese Interpretation im Widerspruch zu den Ergebnissen von OSKI (13), der beobachtete, daß in Gegenwart von Hb-F in desoxygenierter Form die Synthese von 2,3-DPG nicht gesteigert wurde.

c) Suspensionen aus Nabelschnurerythrozyten in Dextran 60 mit einem Hämatokrit von 15%, im folgenden als NS-Dextransuspensionen bezeichnet:

- i. die DPG-Konzentrationen der NS-Dextransuspensionen liegen zu Inkubationsbeginn ($t = 0$ h) höher als die entsprechenden Vollblutwerte, und zwar bei der Serie mit

24 % O_2 : um 7,1%,

14,4% O_2 : um 8,5%,

5 % O_2 : um 13,2%.

- ii. die DPG-Konzentrationen dieser NS-Dextransuspensionen sanken im Verlauf von 3 Stunden bei allen 3 Serien, und zwar bei

24 % O_2 : um 27,6% von 15,19 auf 10,99 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

14,4% O_2 : um 23,4% von 18,75 auf 14,35 $\mu\text{Mol/g Hb}$,

5 % O_2 : um 14,8% von 16,75 auf 14,27 $\mu\text{Mol/g Hb}$.

Der 2,3-DPG-Abfall der NS-Dextransuspensionen ist in allen drei O_2 -Konzentrationen geringfügig größer als der Abfall in den entsprechenden NS-Plasmasuspensionen. Wie in den NS-Plasmasuspensionen ist auch in den NS-Dextransuspensionen der 2,3-DPG-Abfall bei der Serie mit 5% O_2 am geringsten.

- iii. die DPG-Konzentrationen der NS-Dextransuspensionen, Hk 15%, liegen bei allen drei Serien höher als die entsprechenden Werte der Plasmasuspensionen, wie auch schon bei adulten Erythrozyten beobachtet, und zwar bei der Serie mit

24 % O_2 : um 7%,

14,4% O_2 : um 22%,

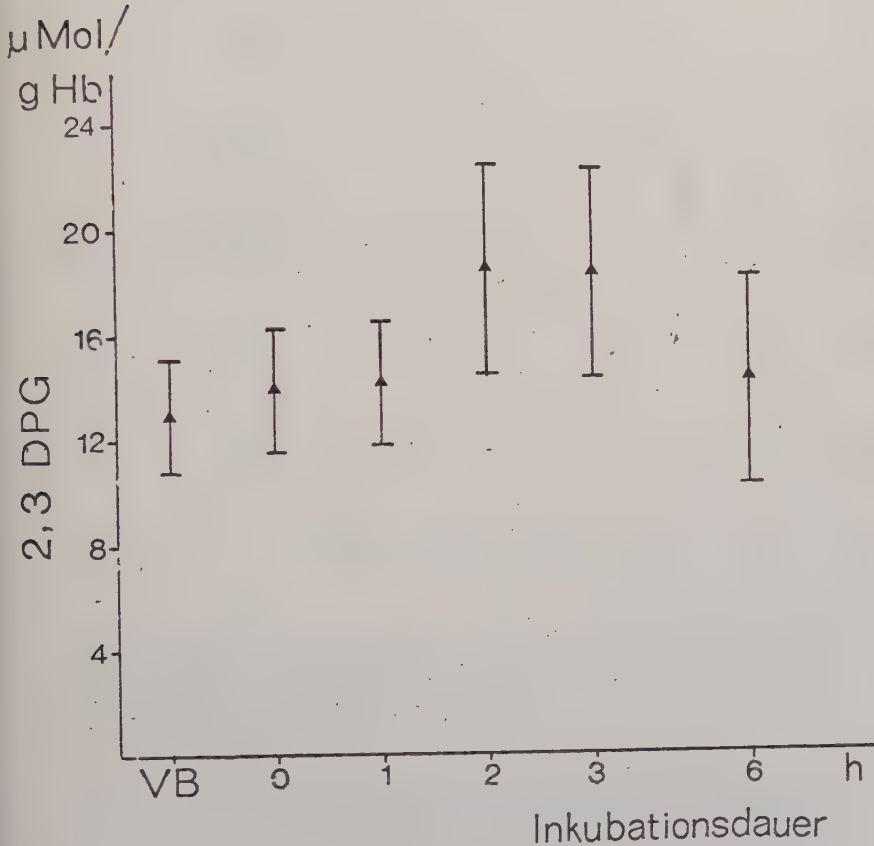
5 % O_2 : um 18%, insgesamt also um 15,7%.

III HUNDEBLUT,

äquibriert mit 13,9% Sauerstoff

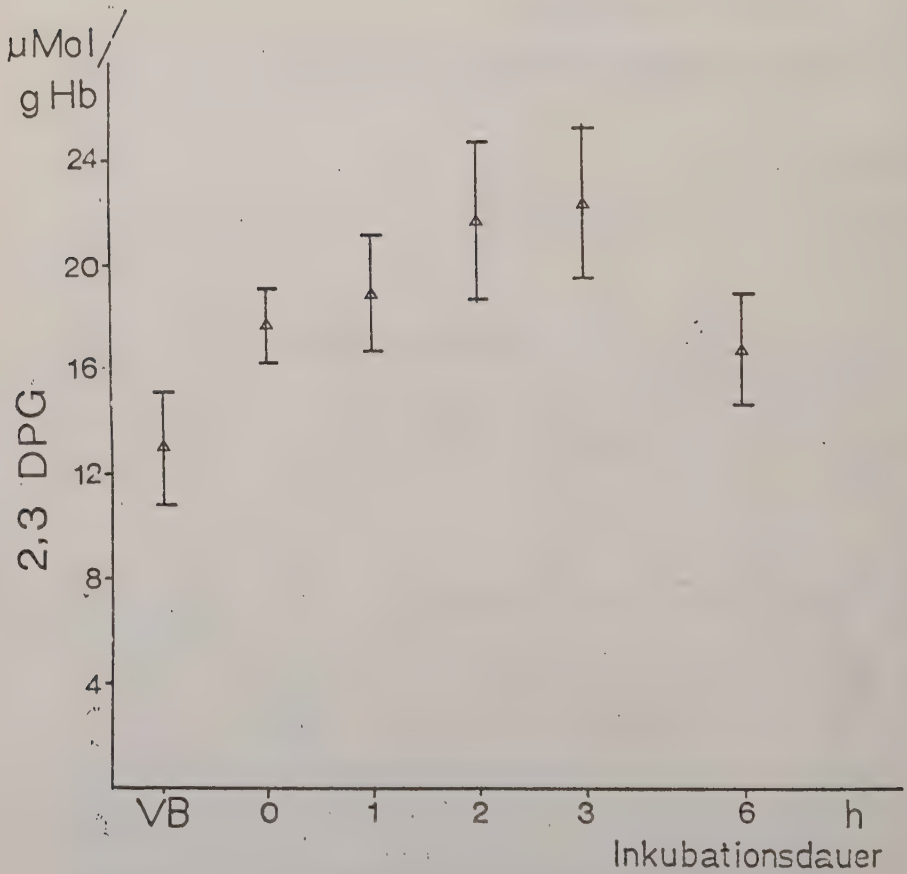
Die Resultate sind in den Abb. 12, 13, 14, 15 und den Tabellen 23, 24, 25 zusammengefaßt.

Abb. 12 a) Hunde-Erythrozytensuspension in Plasma, Hämatokrit 45%
n = 3 (▲)



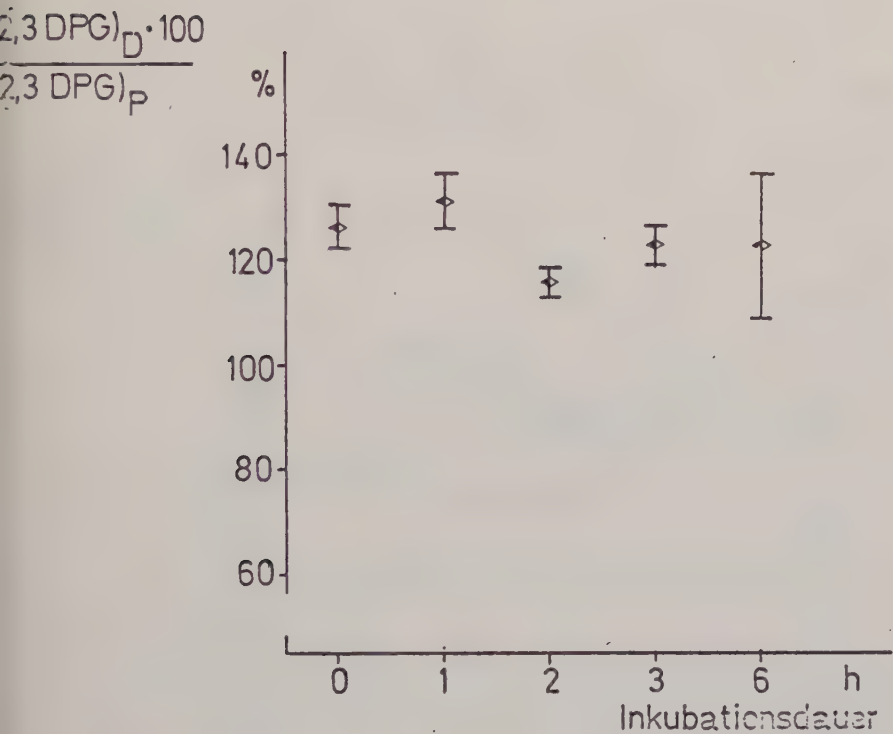
Ordinate: absolute 2,3-DPG-Konzentration in $\mu\text{Mol/g Hb}$,
Mittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte
Abszisse: Zeitpunkt der Messung, VB = Vollblut,
0 = im Tonometer zur Zeit $t = 0$ Stunden und nach
1, 2, 3 und 6 Stunden

Abb. 12 b) Hunde-Erythrozytensuspension in Dextran, Hämatokrit 15%
n = 6 (Δ)



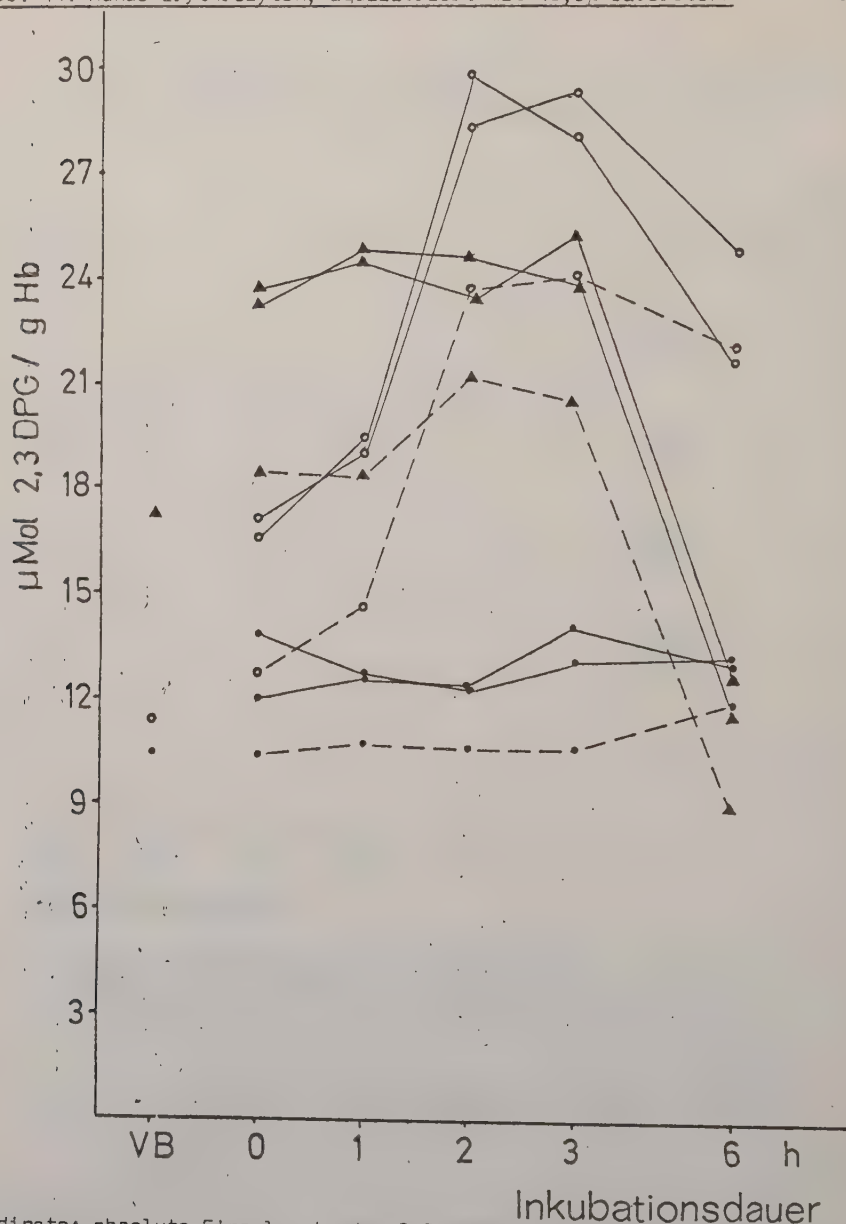
Ordinate: absolute 2,3-DPG-Konzentration in $\mu\text{Mol/g Hb}$,
Mittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte
Abszisse: Zeitpunkt der Messung, VB = Vollblut,
0 = im Tonometer zur Zeit $t = 0$ Stunden und nach
1, 2, 3 und 6 Stunden

Abb. 13: Hundeblut, Äquilibriert mit 13,9% Sauerstoff



Ordinate: die relative 2,3-DPG-Konzentration von Suspensionen aus Erythrozyten und Dextran, Hämatokrit 15%, ausgedrückt als Prozente der 2,3-DPG-Konzentration der entsprechenden Kontrollversuche (Erythrozytensuspensionen in Plasma, Hämatokrit 45%),
Mittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte

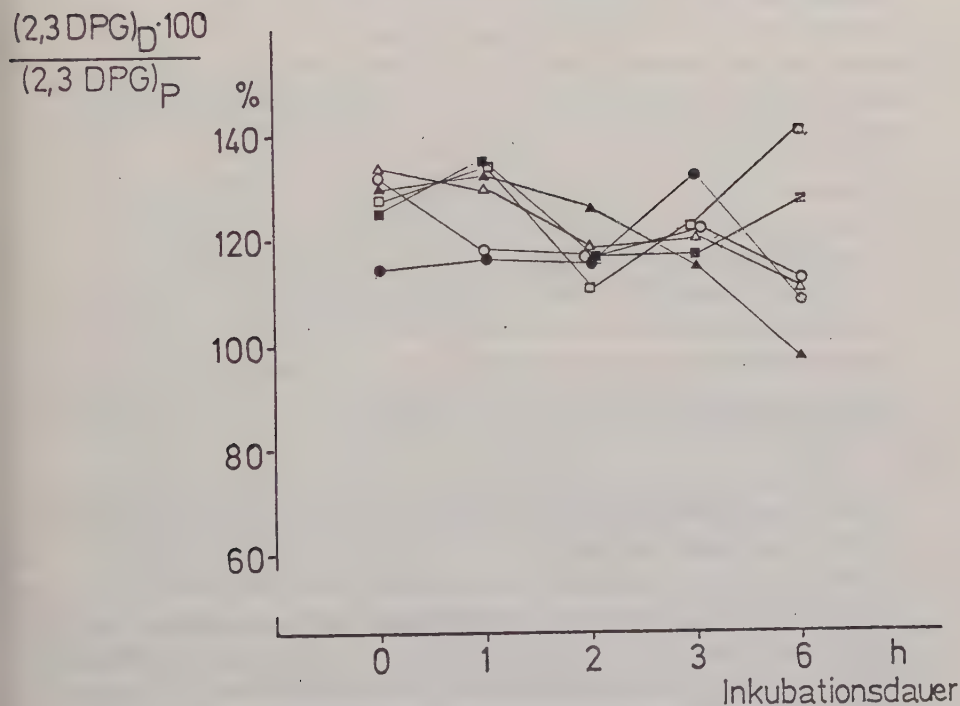
Abszisse: Zeitpunkt der Messung, 0 = im Tonometer zur Zeit $t = 0$ Stunden und nach 1, 2, 3 und 6 Stunden



Ordinate: absolute Einzelwerte der 2,3-DPG-Konzentration in $\mu\text{Mol/g Hb}$; die Werte der Erythrozytensuspensionen in Plasma, Hämatokrit 45%, sind durch unterbrochene Linien miteinander verbunden, die Werte der Erythrozytensuspensionen in Dextran, Hämatokrit 15%, durch ausgezogene Linien.

Abszisse: Zeitpunkt der Messung, VB = Vollblut, 0 = im Tonometer zur Zeit $t = 0$ Stunden und nach 1, 2, 3 und 6 Stunden.

Abb. 15: Hunde-Erythrozyten, äquilibriert mit 13,9% Sauerstoff



Ordinate: relative 2,3-DPG-Konzentrationen von Suspensionen aus Hunde-Erythrozyten und Dextran, Hämatokrit 15%, ausgedrückt als Prozente der 2,3-DPG-Konzentration der entsprechenden Kontrollversuche (Hunde-Erythrozytensuspension in Plasma, Hämatokrit 45%), Einzelwerte.

Abszisse: Zeitpunkt der Messung, 0 = im Tonometer zur Zeit $t = 0$ Stunden, und nach 1, 2, 3 und 6 Stunden.

Im einzelnen ergab sich für Hunde-Erythrozyten folgendes:

a) Vollblut: Die Mittelwerte der 2,3-DPG-Konzentration von Vollblut liegen mit 13,02 $\mu\text{Mol/g Hb}$ ($n = 3$) etwas tiefer als der bei den in vivo-Versuchen (6,12 $\mu\text{MolDPG/ml Ery}$ $\approx$ 18,36 $\mu\text{MolDPG/g Hb}$; $n = 5$, s.u.) und der von OLBRICH (22) festgestellte Wert (20,37 $\mu\text{Mol/g Hb}$; $n = 9$).

b) Suspensionen aus Hunde-Erythrozyten in Plasma mit einem Hämatokrit von 45%:

- i. die DPG-Konzentration ist zu Inkubationsbeginn mit 13,91 $\mu\text{Mol/g Hb}$ (anders als bei humanem adulten Blut und Nabelschnurblut) geringfügig höher als der Vollblutwert. Dieser Unterschied ist u.U. dadurch bedingt, daß die Hunde-Erythrozyten vor dem Inkubieren nicht gewaschen wurden.
- ii. im weiteren Verlauf steigt der Mittelwert nach 1 Stunde an (von 14,29 auf 18,53 $\mu\text{Mol/g Hb}$), um zwischen 3 und 6 Stunden wieder zu fallen (von 18,41 auf 14,32 $\mu\text{Mol/g Hb}$). Dieser Anstieg und Abfall sind nur bei zwei Versuchen zu beobachten, bei denen sie aber nicht mit Veränderungen des pH-Werts zu erklären sind. In einem dritten Versuch blieb die DPG-Konzentration völlig konstant, vgl. Abb. 14.

c) Suspensionen aus Hunde-Erythrozyten in Dextran mit einem Hämatokrit von 15%:

- i. die DPG-Konzentration der Dextransuspension ist zu Inkubationsbeginn mit 17,74 $\mu\text{Mol/g Hb}$ höher als die DPG-Konzentration des Vollbluts und der Wert der Plasmasuspensionen.
- ii. im weiteren Verlauf bleiben die DPG-Konzentrationen der Dextransuspension durchschnittlich 24% höher als die Werte der Plasmasuspensionen, vgl. Abb. 13. Der Anstieg nach einer Stunde (von 18,87 auf 21,67 $\mu\text{Mol/g Hb}$) und der Abfall nach drei Stunden (von 22,28 auf 16,64 $\mu\text{Mol/g Hb}$) treten in einem ähnlichen Ausmaß wie bei den Plasmasuspensionen auf.

Eine Übersicht der in vitro-Verlaufskurven der intraerythrozytären 2,3-DPG-Konzentration zeigt also folgendes:

1. humane adulte Erythrozyten

- a) die Mittelwerte der 2,3-DPG-Konzentration der Plasmasuspensionen, Hk 45%, bleiben konstant über 3 h bzw. 6 h Inkubationsdauer bei 24%, 14,4% und 5% O_2 .
- b) die Mittelwerte der 2,3-DPG-Konzentrationen der Dextransuspensionen sinken geringfügig ab bei 24% und 14,4% O_2 und bleiben konstant bei 5% O_2 .

2. Nabelschnurerythrozyten

- a) die Mittelwerte der 2,3-DPG-Konzentrationen der Plasmasuspensionen, Hk 45%, fallen während 3-stündiger Inkubation kontinuierlich ab bei 24%, 14,4% und 5% O_2 (hier am geringsten).
- b) die Mittelwerte der 2,3-DPG-Konzentrationen der Dextransuspensionen, Hk 15%, fallen ebenfalls kontinuierlich bei 24%, 14,4 und 5% O_2 (hier am wenigsten), der Abfall ist jeweils größer als der in den entsprechenden Plasmasuspensionen.

3. Hunde-Erythrozyten

- a) die Mittelwerte der 2,3-DPG-Konzentrationen der Plasmasuspensionen, Hk 45%, steigen bis $t = 3$ h und fallen bis $t = 6$ h wieder auf den Ausgangswert (O_2 13,9 %).
- b) die Mittelwerte der 2,3-DPG-Konzentrationen der Dextransuspensionen, Hk 15%, steigen bis $t = 3$ h etwas weniger und liegen bei $t = 6$ h geringfügig unter dem Ausgangswert.

Bei den Versuchen mit humanem Blut zeigt sich also, daß, mit Ausnahme der mit 5% O_2 inkubierten Suspensionen aus adultem Blut, bei den Dextransuspensionen eine Tendenz zur Abnahme der intraerythrozytären 2,3-DPG-Konzentration vorliegt, die bei der Kontrollgruppe der Plasmasuspensionen schwächer ausgeprägt ist (beim Nabelschnurblut), bzw. nicht auftritt (adultes Blut, 24% und 14,4% O_2). Entsprechendes gilt für die Versuche mit Hundeblood. Diese Tendenz der stärkeren Abnahme der intraerythrozytären 2,3-DPG-Konzentration bei den Dextransuspensionen tritt zwar bei den verschiedenen Erythrozytenarten und den verschiedenen Sauerstoffzufuhren fast einheitlich auf, jedoch ergibt sich nie ein gegenüber der Kontrollgruppe der Plasmasuspensionen signifikant verschiedenes Verhalten der Dextransuspensionen.

Verhalten des mittleren Erythrozytenvolumens (MCV) und der mittleren corpusculären Hämoglobin-Konzentration (MCHC) in Erythrozytensuspensionen in vitro:

Im Verlauf der beschriebenen in vitro-Untersuchungsserien wurden keine signifikanten Änderungen des mittleren Zellvolumens (MCV) und der mittleren zellulären Hämoglobin-Konzentration (MCHC) festgestellt. Dies bedeutet, daß die 2,3-DPG-Konzentration der Erythrozyten, ausgedrückt in $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrozyten während des Versuches die gleichen Änderungen aufweist, wie die beschriebene 2,3-DPG-Konzentration (in $\mu\text{Mol/g}$ Hämoglobin).

E Versuchsbeschreibung der in-vivo-Hundeversuche

I ADULTE HUNDE, SCHOCKVERSUCHE

Fünf normal hydrierte, unausgelesene Bastardhunde verschiedenen Geschlechts wurden ohne Praemedikation mit 25 mg Pentobarbital-Natrium/kg Körpergewicht narkotisiert und endotracheal intubiert. Folgende Gefäße wurden freipräpariert und kanüliert: A. carotis communis, V. jugularis externa, A. und V. brachialis einer und A. brachialis der anderen Extremität. Die Tiere atmeten spontan ein Luft-Sauerstoffgemisch (1-1,5 l/Min O₂) während der gesamten Versuchsdauer. Die Tiere wurden mit 3 mg Heparin-Novo/kg Körpergewicht heparinisiert. Nach einer Kontrollzeit von 30 Minuten wurde über die A. brachialis in ein silikonisiertes Reservoir Blut entzogen, wobei der arterielle Mitteldruck innerhalb von 10 Minuten auf 40 mmHg gesenkt wurde. Dieser Blutdruck wurde durch Niveaustellungen des Reservoirs exakt konstant gehalten. Der Zeitpunkt, zu dem die Tiere anfangen, Blut aus dem Reservoir in ihren Kreislauf zurückzunehmen, wurde als Ende der Hypotoniezeit bezeichnet. 5 Minuten danach erfolgte die Abnahme 2. Danach wurden 80% des maximal entzogenen Blutvolumens als Dextran 60 (Macrodex^A) i.v. infundiert. 10 Minuten nach Ende der Infusion erfolgte Abnahme 3. Die weiteren Abnahmen wurden 30, 60, 120 Minuten nach Infusionsende durchgeführt.

Diese Versuche wurden am Institut für Experimentelle Chirurgie an der Chirurgischen Klinik der Universität München von Priv.-Doz. Dr. Messmer, Dr. Sunder-Plassmann und Dr. Jesch durchgeführt.

II NEUGEBORENE HUNDE, HÄMODILUTIONSVERSUCHE

Fünf neugeborene Hunde wurden im Alter von 2 bis 9 Tagen durch isovolämischen Austausch von Blut gegen Dextran 60 auf einen Hämatokrit von durchschnittlich 15% hämodiluiert. 2,3-DPG wurde vor, und 0, 1, 2, 3 Stunden sowie bei zwei Tieren 26 Stunden nach Hämodilution bestimmt. Daneben wurden bei zwei Tieren Herzfrequenz, arterieller Mitteldruck, arterieller Sauerstoffdruck, venöser pH (Tabelle 31) und die scheinbare Blutviskosität (37°C ; 115 sec^{-1} , Abb. 17 b) gemessen.

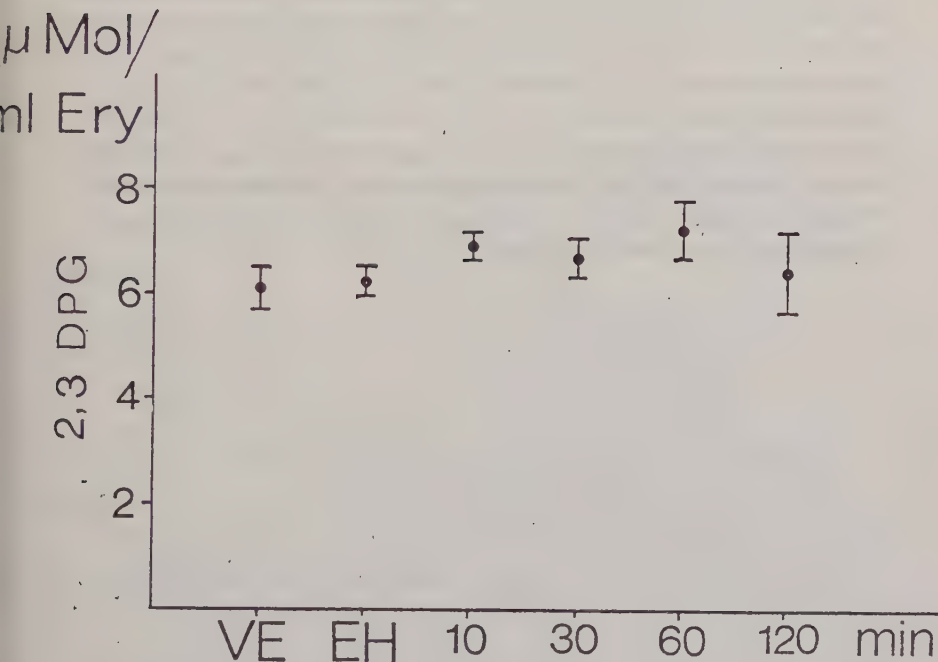
Diese Versuche wurden im Labor der Kinderchirurgischen Abteilung der Universitäts-Kinderklinik von Dr. E. Hollmann und Dr. H. Versmold durchgeführt, die scheinbare Blutviskosität von Priv.-Doz. Dr. H. Schmid-Schönbein gemessen.

F Versuchsergebnisse und Diskussion der in vivo-Versuche

I ADULTE HUNDE, SCHOCKVERSUCHE

Die Resultate sind in Abb. 16 und den Tabellen 26 - 30 zusammengefaßt.

Abb. 16:



Ordinate: intraerythrozytäre 2,3-DPG-Konzentration in $\mu\text{Mol/ml Ery}$,

Mittelwert $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte, $n = 5$;

Abszisse: Zeitpunkt der Messung, VE = vor Entnahme,

EH = Ende der Hypotoniezeit, sowie 10, 30, 60 und 120 Minuten
nach Wiederauffüllung des Kreislaufs mit Dextran 60

Im einzelnen ergab sich folgendes:

- a) Der Mittelwert der Kontrollen (VE) für die intraerythrozytäre 2,3-DPG-Konzentration von Hundeblut liegt mit 6,12 $\mu\text{Mol/ml}$ Ery etwas höher als der in den in vitro-Versuchen mit Hundeblut ermittelte Wert.
- b) Nach der Infusion mit Dextran 60 steigt die DPG-Konzentration um 11% (um 0,71 $\mu\text{Mol/ml}$ Ery zwischen dem Ende der Hypotoniezeit und 10 Minuten nach der Infusion mit Dextran) und nähert sich zum Zeitpunkt 120 Minuten wieder dem Kontrollwert. Der Quotient Hämoglobinkonzentration zu Hämatokrit macht keine nennenswerten Änderungen durch, vgl. Tabellen 26 - 30. Der Anstieg der DPG-Konzentration kann als Reaktion auf die durch den Blutentzug verursachte Hypoxie gedeutet werden. Eine Verschlechterung der Sauerstoffversorgung der Gewebe durch eine gesteigerte Sauerstoffaffinität des Hämoglobins wird nicht beobachtet.

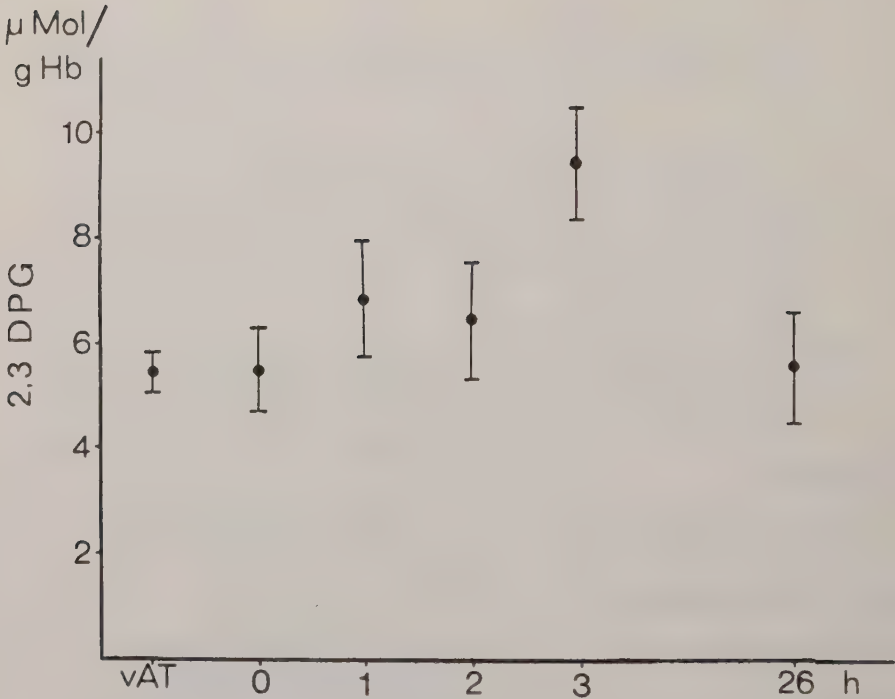
II NEUGEBORENE HUNDE, HÄMODILUTIONSVERSUCHE

Die Resultate sind in Abb. 17 und den Tabellen 31 und 32 zusammengefaßt. Bei der Hämodilution neugeborener Hunde kam es mit dem Hämatokritabfall zur Verminderung der Blutviskosität (Abb. 17b). Der Mittelwert der 2,3-DPG-Konzentration liegt 1 - 3 Stunden nach Dilution über dem der Konzentration vor Versuchsbeginn, und nähert sich diesem wieder nach 26 Stunden. Die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins dürfte also auch unter den in vivo-Bedingungen dieses Versuchs nicht gesteigert sein.

Tabelle 31 Kardiorespiratorische Parameter bei 2 neugeborenen Hunden vor und nach isovolämischer Hämodilution mit Dextran 60

Untersuchung	Tier	vAT	Stunden nach Hämodilution				
			0	1	2	3	26
Herzfrequenz (min^{-1})	I	240	255	240	245	235	
	II	250	290	250	260	275	
art. Mitteldruck (mm Hg)	I	72	58	56	60	48	
	II	68	60	48	50	58	
art. O_2 -Druck (Torr)	I	51,0	53,5	51,5	51,5	50,5	61,0
	II	50,0	70,5	66,2	79,5	64,0	
pH venös	I	7,35	7,38	7,29	7,29	7,41	7,28
	II	7,36	7,35	7,41	7,43	7,39	

Abb. 17a:



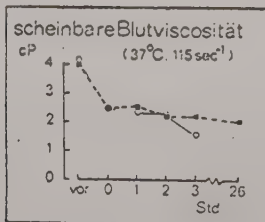
Isovolämische Hämodilution neugeborener Hunde:

Ordinate: Intraerythrozytäre 2,3-DPG-Konzentration in $\mu\text{Mol/g Hb}$

Mittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte

Abszisse: Zeitpunkt der Messung, VAT = vor Austausch-Transfusion, sowie 0, 1, 2, 3 und 26 Stunden nach dem Austausch Blut gegen Dextran 60

Abb. 17b:



Einfluß der isovolämischen Hämodilution neugeborener Hunde auf die scheinbare Blutviskosität (celsi-Poise)

G Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war, den Einfluß der Hämodilution mit makro-molekularem Dextran auf die Regulation der Sauerstoffabgabe des Hämoglobin an die Gewebe zu untersuchen. Diese Frage erschien uns deshalb relevant, da neben Befunden, die die Bedeutung kolloidaler Lösungen für die Verbesserung der Hämodynamik aufzeigen, der Einwand von KNORPP (7) vorlag, der an Kaninchen nach hämorrhagischem Schock und Wiederauffüllung mit Dextran nach 90 - 270 Minuten eine Links-verschiebung der Sauerstoffbindungskurve fand. Untersuchungen von OLBRICH (22) zeigten, daß bei Dilution mit niedermolekularem Dextran unter hyperoxischen Bedingungen nicht mit einer Steigerung der Sauerstoffaffinität des Hämoglobin zu rechnen ist.

Nach 11 in-vitro-Versuchen an adultem humanen Blut (davon 3 unter hyperoxischen, 5 unter normoxischen und 3 unter hypoxischen Bedingungen), 9 in-vitro-Versuchen an humanem Nabelschnurblut (davon je 3 unter hyper-, norm- und hypoxischen Bedingungen) und 3 in-vitro-Versuchen an adultem Hundeblut (unter normoxischen Bedingungen), sowie 5 in-vivo-Versuchen an adulten Hunden und 2 in-vivo-Versuchen an neugeborenen Hunden kamen wir zu folgenden Ergebnissen:

1. Bei den in-vitro-Versuchen mit humanem adulten Blut liegen die intraerythrozytären 2,3-DPG-Konzentrationen von Erythrozytensuspensionen in Dextran, Hämatokrit 15%, um durchschnittlich 18% höher als die entsprechenden 2,3-DPG-Konzentrationen von Erythrozytensuspensionen in Plasma, Hämatokrit 45%. Dieser Effekt tritt unabhängig von der O_2 -Zufuhr auf und wurde ebenso bei mit Plasma auf Hämatokrit 15% diluierten Erythrozytensuspensionen gefunden (22). Während der Inkubation sinken die DPG-Konzentrationen der Dextransuspensionen, Hk 15%, geringfügig bei 24% und 14,4% O_2 -Zufuhr, jedoch ist diese Tendenz nicht signifikant. Auch wird die DPG-Konzentration der mitbestimmten Kontrollsuspensionen (Erythrozyten in Plasma, Hk 45%) nicht unterschritten. Bei 5% O_2 -Zufuhr tritt anfangs ein nicht signifikanter Anstieg der DPG-Konzentration auf, nach 3 Stunden erreicht das DPG wieder seinen Ausgangswert. Die DPG-Konzentration der Kontrollsuspensionen (Erythrozyten in Plasma, Hk 45%) bleibt bei 24%, 14,4% und 5% O_2 -Zufuhr konstant in Höhe des Ausgangswertes.

2. Bei den in-vitro-Versuchen mit humanem Nabelschnurblut liegen die intraerythrozytären 2,3-DPG-Konzentrationen von Erythrozytensuspensionen in Dextran, Hk 15%, um durchschnittlich 16% höher als die DPG-Konzentrationen der Kontrollsuspensionen (Erythrozyten in Plasma, Hk 45%). Während der Inkubation sinkt die DPG-Konzentration kontinuierlich. Dieses Abfallen des DPG ist bei den Dextransuspensionen ausgeprägter als bei den Plasmasuspensionen. Bei 24% und 14,4% O₂-Zufuhr sinkt die DPG-Konzentration stärker als bei 5% O₂-Zufuhr.

3. Bei den in-vitro-Versuchen mit Hundeblut sind die 2,3-DPG-Konzentrationen von Erythrozytensuspensionen in Dextran durchschnittlich um 22% höher als die DPG-Konzentrationen der Kontrollsuspensionen (Erythrozyten in Plasma, Hk 45%). Bei 2 Versuchen trat nach einer Stunde ein Anstieg der DPG-Konzentration auf, dem ein Wiederabsinken des DPG folgte. Bei einem dritten Versuch blieb das DPG konstant.

Mit Ausnahme der Versuche mit adultem humanen Blut bei 5% O₂-Zufuhr ist die Erhöhung der DPG-Konzentrationen der Dextransuspensionen gegenüber den Plasmasuspensionen zu Inkubationsbeginn größer als zu Ende der Inkubation. Das DPG der Dextransuspensionen zeigt also tendenziell nach einer anfänglichen Erhöhung gegenüber den Kontrollsuspensionen eine Wiederannäherung an die Werte der Plasmasuspensionen. Diese Tendenz ist jedoch statistisch nicht zu sichern. Die Mittelwerte der zu den einzelnen Zeitpunkten bestimmten 2,3-DPG-Konzentrationen der Dextransuspensionen unterschritten aber in keinem Fall die Mittelwerte der DPG-Konzentrationen der Kontrollsuspensionen.

4. Bei den in-vivo-Versuchen an adulten Hunden, deren Kreislauf nach hämorrhagischem Schock mit Dextran wiederaufgefüllt worden war, zeigte sich, daß kurz nach der Infusion von Dextran die DPG-Konzentration um durchschnittlich 11% anstieg, nach 120 Minuten erreichte das DPG wieder seinen Ausgangswert. Die mittlere corpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) änderte sich während der Versuche nicht.

5. Bei den in-vivo-Versuchen an neugeborenen Hunden steigt die 2,3-DPG-Konzentration nach 1 - 3 Stunden nach isovolämischer Hämodilution an und liegt bei 26 Stunden wieder in Höhe des Ausgangswertes.

Die 2,3-DPG-Konzentration von Erythrozyten, die dem Einfluß von Dextran ausgesetzt sind, fällt gegenüber den Kontrollen nicht ab. Das bedeutet, daß die Sauerstoffaffinität des Hämoglobin durch Dextran nicht gesteigert wird. Ein nachteiliger Effekt von Dextran auf die Sauerstoffversorgung der Gewebe ist deshalb nicht zu erwarten.

H Tabellen

Tabelle 1: Meßergebnisse der Versuche 1' - 5' zur Überprüfung der enzymatischen Meßmethode der 2,3-DPG-Konzentration

Abkürzungen:

2,3-DPG = 2,3-Diphosphoglycerat, gemessen in uMol/g Hämoglobin

Hb = Hämoglobin in g %

Hk = Hämatokrit in %

Ery = Erythrozytenzahl in $10^6/\text{mm}^3$

MCV = mittleres Erythrozytenvolumen in 10^{-9} mm^3

VB = Vollblut

1 = Erythrozytensuspension in Plasma, Hk 45%

2 = " in Dextran, Hk 45%

3 = " in Plasma, Hk 15%

4 = " in Dextran, Hk 15%

5 = Suspension 1 nach Zentrifugieren und Absaugen des Überstands

6 = " 2 " " " " " "

7 = " 3 " " " " " "

8 = " 4 " " " " " "

Kontrollen während der Präparation:

vW = Erythrozytenbrei nach dem ersten Zentrifugieren, Überstand abgesaugt

nW = Erythrozytenbrei nach dem dritten Waschen, Überstand abgesaugt

Versuch 1':

	2,3-DPG uMol/g Hb	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV
VB	15,27	7,76	16,5	47,0	5,02	93
1	13,90	7,64	18,6	51,8	5,65	91
2	19,02	7,64	16,9	47,8	4,96	96
3	16,70	8,01	6,0	17,5	1,80	97
4	17,89	7,63	5,3	15,4	1,58	97
5	11,74	7,89	37,1	84,2	10,90	89
6	14,89	7,66	35,4	87,5	10,20	92
7	13,88	8,07	36,8	85,2	10,66	90
8	15,87	-	36,0	87,7	10,24	93
vW	11,58	-	37,5	86,9	10,59	92
nW	12,60	7,60	34,4	88,2	9,86	93

Versuch 2':

	2,3-DPG uMol/g Hb	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV
VB	15,06	7,62	14,2	42,9	4,61	92
1	11,55	7,72	15,8	47,1	5,16	91
2	13,24	7,84	5,3	15,0	1,67	89
3	13,35	7,64	12,6	37,3	3,99	93
4	13,79	7,58	4,8	14,3	1,51	95
5	12,58	-	31,8	84,9	9,76	90
6	13,65	-	32,7	83,3	9,99	90
7	12,86	-	27,3	77,3	8,71	89
8	15,11	-	29,7	82,1	9,22	89
vW	11,71	7,68	31,1	85,0	9,89	90
nW	10,85	7,56	34,0	84,6	10,37	89

Versuch 3':

	2,3-DPG uMol/g Hb	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV
VB	15,79	7,66	13,1	42,3	3,99	105
1	13,56	7,76	16,3	48,0	4,89	97
2	14,72	7,55	15,6	45,1	4,54	98
3	18,81	7,84	5,9	17,4	1,70	102
4	15,26	7,49	5,7	16,6	1,64	101
5	13,94	-	34,8	90,8	9,79	96
6	14,68	-	34,7	90,6	9,77	97
7	15,76	-	34,3	90,5	9,96	97
8	10,49	-	30,6	87,3	8,91	98
vW	12,26	7,67	36,0	89,8	10,36	95
nW	10,74	-	36,0	87,8	10,23	93

Versuch 4':						
	2,3-DPG uMol/g Hb	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV
VB	10,60	7,64	16,3	51,3	4,88	104
1	9,83	7,85	18,1	47,7	5,03	94
2	9,28	7,56	16,5	47,4	3,83	97
3	12,43	7,89	6,1	18,1	1,90	95
4	9,71	7,47	5,7	16,1	1,75	92
5	8,93	-	35,7	95,1	10,74	100
6	7,65	7,49	35,6	92,2	10,66	97
7	9,09	-	36,0	90,7	10,72	94
8	8,37	-	32,2	87,7	9,82	91
vW	6,63	7,76	36,8	87,7	11,50	91
nW	6,99	7,62	36,2	85,3	10,60	91

Versuch 5':						
	2,3-DPG uMol/g Hb	pH	Hb g %	Hk g	Ery	MCV
VB	14,12	7,54	12,4	37,1	4,00	92
1	12,55	7,86	15,5	46,1	5,02	91
2	13,03	7,64	14,9	41,6	4,64	89
3	11,82	7,92	6,2	18,0	1,95	92
4	13,32	7,57	5,3	16,9	1,83	91
5	13,13	-	34,9	87,7	9,96	89
6	11,98	-	32,6	87,0	10,24	89
7	11,60	-	33,1	89,0	10,67	91
8	8,61	-	34,0	88,4	10,29	90
vW	11,39	7,68	33,9	85,5	10,14	88
nW	10,07	7,63	31,8	86,4	10,64	89

Tabelle 2: s. S. 13, Versuchsprogramm der in-vitro-Versuche

Die Tabellen 3 - 25 geben die Meßergebnisse der in-vitro-Versuche wieder. Die Versuchsnummerierung entspricht der Reihenfolge ihrer Durchführung. Versuch 1 wurde nicht ausgewertet.

Abkürzungen

2,3-DPG = 2,3-Diphosphoglycerat, gemessen in $\mu\text{Mol/g Hb}$

P 50 = Sauerstoff-Halbsättigungsdruck in Torr

Hb = Hämoglobin in g %

Hk = Hämatokrit in %

Ery = Erythrozytenzahl in $10^6/\text{mm}^3$

MCV = mittleres Erythrozytenvolumen in 10^{-9} mm^3

MCHC = mittlere corpuskuläre Hämoglobinkonzentration in g %

VB = Vollblut

Plasma 45% = Erythrozytensuspension in Plasma, Hämatokrit 45%

Dextran₁ 15% = Erythrozytensuspension in Dextran, Hämatokrit 15%

Dextran₂ 15% = Erythrozytensuspension in Dextran, Hämatokrit 15%

h = Inkubationsdauer in Stunden

Humanes adultes Blut, äquilibriert mit 24% Sauerstoff

Tabelle 3: Versuch 3

	2,3-DPG $\mu\text{Mol/g Hb}$	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	12,75	26,1	7,44	14,8	43,5	4,56	94	34,0
Plasma 45%								
0 h	11,19	25,3	7,45	16,9	48,3	5,25	91	35,0
1 h	9,42	24,4	7,38	18,4	50,7	5,44	92	36,3
2 h	9,36	24,4	7,38	16,9	50,9	5,21	96	33,2
3 h	8,85	24,2	7,36	17,9	51,0	5,48	92	35,1
Dextran ₁ 15%								
0 h	11,37	25,4	7,39	6,8	18,5	1,99	92	36,4
1 h	11,67	25,5	7,39	6,1	17,5	1,88	92	34,9
2 h	11,28	25,3	7,37	6,1	17,6	1,88	92	34,9
3 h	11,58	25,4	7,37	5,2	15,4	1,64	83	33,7
Dextran ₂ 15%								
0 h	11,88	25,6	7,42	5,0	14,2	1,56	91	35,2
1 h	12,48	25,9	7,36	4,9	17,4	1,56	94	33,3
2 h	11,07	25,2	7,35	5,0	13,9	1,49	93	35,9
3 h	9,30	24,4	7,40	6,0	16,7	1,77	94	35,9

Tabelle 4: Versuch 4

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	11,22	25,3	7,45	16,5	49,0	5,26	92	33,7
Plasma 45%								
0 h	10,44	24,9	7,44	18,6	51,6	5,52	92	36,0
1 h	10,05	24,7	7,44	17,3	48,7	5,35	90	35,5
2 h	10,15	24,8	7,43	17,2	50,9	5,41	93	33,8
3 h	9,48	24,4	7,37	17,8	50,2	5,53	90	35,5
Dextran ₁ 15%								
0 h	12,48	25,8	7,41	5,9	15,6	1,72	90	37,8
1 h	12,90	26,1	7,45	5,5	15,5	-	-	35,5
2 h	11,49	25,4	7,43	5,5	15,4	1,68	91	35,7
3 h	12,42	25,8	7,42	5,2	15,0	1,65	90	34,6
Dextran ₂ 15%								
0 h	13,05	26,2	7,37	5,4	13,2	1,47	90	40,9
1 h	11,94	25,5	7,41	6,0	17,6	1,87	93	34,1
2 h	11,25	25,3	7,69	6,2	17,6	1,91	92	35,1
3 h	11,04	25,2	7,70	6,3	17,5	1,93	90	36,0

Tabelle 5: Versuch 6

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	11,16	25,3	7,39	16,5	48,2	5,01	95	34,3
Plasma 45%								
0 h	10,41	25,0	7,41	17,2	49,1	5,30	92	35,0
1 h	11,55	25,5	7,43	17,0	50,6	5,36	93	33,6
2 h	11,94	25,7	7,47	16,0	48,9	5,23	92	32,8
3 h	12,24	25,9	7,47	15,3	46,4	5,71	95	33,0
Dextran ₁ 15%								
0 h	13,50	26,4	7,43	5,2	14,7	1,61	92	35,3
1 h	14,20	27,0	7,41	5,4	15,1	-	-	35,7
2 h	11,37	25,4	7,44	5,5	15,3	1,65	92	35,9
3 h	12,75	26,1	7,48	5,4	15,2	2,26	94	35,5
Dextran ₂ 15%								
0 h	13,48	26,4	7,46	5,3	14,9	1,62	92	35,6
1 h	12,48	26,0	7,39	5,9	16,5	1,76	93	35,8
2 h	11,46	25,4	7,37	6,0	17,9	1,91	93	33,5
3 h	12,63	26,0	7,41	4,4	19,2	2,02	94	26,0

Humanes adultes Blut, äquibriert mit 14,4% Sauerstoff

Tabelle 6: Versuch 16

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	16,23	28,1	7,49	14,3	44,5	4,76	93	32,2
Plasma 45%								
0 h	11,73	25,5	7,47	19,7	49,2	5,73	91	40,1
1 h	12,48	26,0	7,43	17,7	50,1	5,68	88	35,4
2 h	14,47	27,2	7,40	18,5	54,4	5,72	95	34,1
3 h	12,93	26,1	7,38	19,0	50,7	5,99	84	37,5
6 h	10,65	25,0	7,33	21,5	64,6	6,71	88	33,3
12 h	9,27	24,3	7,30	24,8	69,9	7,52	93	35,5
Dextran ₁ 15%								
0 h	18,60	29,0	7,34	5,2	15,5	1,66	93	33,5
1 h	19,38	29,1	7,34	5,5	16,0	1,75	92	34,3
2 h	18,66	29,0	7,42	5,7	16,6	1,64	102	34,3
3 h	17,82	28,7	7,42	5,7	15,6	2,07	87	36,5
6 h	15,30	27,5	7,40	5,9	20,7	1,76	118	28,6
12 h	13,29	26,5	7,51	6,7	18,5	1,82	102	36,2
Dextran ₂ 15%								
0 h	18,81	29,0	7,30	5,4	17,7	1,73	104	30,5
1 h	19,71	29,4	7,33	5,4	14,9	1,66	90	36,2
2 h	19,20	29,2	7,38	5,5	15,2	1,66	92	36,4
3 h	16,20	28,0	7,38	5,7	16,8	1,93	89	33,9
6 h	13,98	26,8	7,40	6,0	16,0	1,75	92	37,5
12 h	13,17	26,3	7,51	6,7	19,3	1,84	108	34,7

Tabelle 7: Versuch 20

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	9,0	24,2	7,57	12,9	35,1	3,93	88	36,6
Plasma 45%								
0 h	8,82	24,2	7,44	15,7	46,8	5,20	89	33,6
1 h	9,84	24,7	7,44	16,0	45,5	5,12	88	35,1
2 h	9,84	24,7	7,42	15,8	44,0	5,03	87	35,9
3 h	9,03	24,2	7,39	16,6	48,0	5,36	89	34,6
6 h	13,44	26,4	7,44	16,5	47,2	5,23	90	34,4
12 h	10,08	24,8	7,41	26,0	65,8	7,60	87	38,3
Dextran ₁ 15%								
0 h	10,08	24,8	7,32	6,2	16,8	1,90	88	36,9
1 h	11,73	25,3	7,35	5,7	17,6	2,02	90	32,3
2 h	10,68	25,0	7,32	5,5	15,5	1,75	89	35,5
3 h	14,61	27,2	7,41	5,5	15,6	1,78	87	35,3
6 h	14,64	27,2	7,41	5,4	15,4	1,67	93	35,0
12 h	7,92	23,8	7,30	5,2	16,9	1,58	108	30,7
Dextran ₂ 15%								
0 h	12,48	26,0	7,35	5,6	17,3	1,78	98	32,4
1 h	12,54	26,0	7,34	5,6	14,9	1,73	85	37,5
2 h	10,26	24,9	7,32	4,7	13,1	1,50	88	32,1%
3 h	12,87	26,1	7,30	4,9	14,7	1,61	92	33,4
6 h	12,33	25,9	7,38	5,5	17,4	1,62	108	31,6
12 h	4,92	22,2	7,35	3,8	8,0	0,78	105	47,5

Tabelle 8: Versuch 21

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	12,39	25,9	7,56	14,9	43,5	4,60	93	34,3
Plasma 45%								
0 h	10,95	25,1	7,45	17,9	48,9	5,19	93	35,8
1 h	11,82	25,6	7,41	17,8	50,0	5,29	94	35,6
6 h	9,18	24,4	7,42	19,8	52,6	5,49	95	37,6
12 h	5,91	22,9	7,66	25,3	67,6	7,02	96	37,4
Dextran ₁ 15%								
0 h	17,43	28,4	7,38	5,4	15,7	1,62	97	34,4
1 h	15,51	27,6	7,35	5,5	15,6	1,60	98	35,2
6 h	7,83	23,6	7,41	6,2	21,6	1,61	134	28,7
12 h	5,94	22,9	7,47	5,8	11,3	1,21	91	51,3
Dextran ₂ 15%								
0 h	15,99	27,8	7,34	4,5	12,5	1,31	95	36,0
1 h	14,64	27,2	7,32	4,4	12,8	1,32	99	34,4
6 h	11,64	25,5	7,32	3,1	9,2	0,90	100	33,7
12 h	8,70	24,1	7,34	3,8	9,3	0,84	108	40,9

Tabelle 9: Versuch 18

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	14,04	26,8	7,43	17,2	54,7	5,29	103	31,6
Plasma 45%								
0 h	13,68	26,6	7,40	16,0	46,4	4,88	94	34,5
1 h	13,02	26,2	7,37	16,6	50,3	5,21	96	33,0
2 h	13,23	26,3	7,34	16,3	46,9	5,36	93	34,8
3 h	12,93	26,2	7,36	16,6	49,0	5,16	94	33,9
Dextran ₁ 15%								
0 h	14,52	27,0	7,40	6,2	16,9	1,81	94	36,6
1 h	12,87	26,1	7,32	6,4	19,0	1,96	96	33,7
2 h	13,77	26,4	7,31	6,4	17,4	1,83	95	36,7
3 h	13,56	26,4	7,41	6,7	19,3	2,02	95	34,7
Dextran ₂ 15%								
0 h	15,75	27,7	7,38	5,7	16,2	1,72	94	35,2
1 h	17,73	28,7	7,32	5,7	15,6	1,67	93	36,5
2 h	17,04	28,3	7,30	5,8	15,5	1,65	94	37,4
3 h	12,90	26,3	7,36	6,1	17,2	1,83	94	35,5

Tabelle 10: Versuch 19

	2,3-DPG, uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	8,70	24,1	7,46	14,1	39,9	4,24	94	35,3
Plasma 45%								
0 h	8,88	24,2	7,44	15,6	44,3	4,54	96	35,2
1 h	8,70	24,1	7,35	16,9	47,4	5,02	94	35,7
2 h	8,73	24,1	7,32	17,7	48,0	4,89	97	36,8
3 h	9,24	24,4	7,30	15,9	46,6	4,70	94	34,2
Dextran ₁ 15%								
0 h	8,40	24,0	7,35	5,8	14,7	1,60	92	39,4
1 h	9,39	24,7	7,34	6,0	15,5	1,65	94	38,7
2 h	9,0	24,2	7,34	4,2	10,7	1,13	95	39,2
3 h	8,37	24,0	7,44	4,1	10,9	1,19	93	37,6
Dextran ₂ 15%								
0 h	9,30	24,3	7,36	5,8	15,1	1,62	94	38,4
1 h	9,12	24,2	7,34	4,0	9,6	1,05	91	41,6
2 h	9,78	24,6	7,32	5,3	14,3	1,51	95	37,0
3 h	8,25	23,8	7,42	5,9	15,5	1,69	92	38,0

Humanes adultes Blut, Äquibriert mit 5% Sauerstoff

Tabelle 11: Versuch 7

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	10,89	25,2	7,44	15,1	46,0	4,89	93	32,8
Plasma 45%								
0 h	9,66	24,6	7,41	19,7	57,7	6,22	92	34,2
1 h	11,07	25,3	7,37	17,7	51,0	5,55	91	34,7
2 h	11,22	25,4	7,37	17,1	51,3	5,43	94	33,4
3 h	11,16	25,3	7,36	17,4	52,4	5,43	95	33,3
Dextran ₁ 15%								
0 h	13,77	26,5	7,35	5,2	16,0	1,72	93	32,5
1 h	14,79	27,3	7,42	5,5	17,2	1,81	95	32,0
2 h	13,92	26,8	7,38	5,4	15,7	1,70	92	34,4
3 h	13,68	26,6	7,39	5,4	16,6	1,80	92	32,5
Dextran ₂ 15%								
0 h	12,60	26,1	7,38	5,5	16,3	1,76	93	33,8
1 h	14,11	26,9	7,39	5,5	16,0	1,72	92	34,4
2 h	14,49	27,1	7,37	5,4	16,1	1,72	93	33,5
3 h	13,83	26,6	7,38	5,4	16,1	1,71	94	33,5

Tabelle 12: Versuch 13

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	14,43	27,2	7,46	12,9	40,5	3,99	100	31,9
Plasma 45%								
0 h	12,99	26,2	7,47	15,7	55,5	4,75	116	28,4
1 h	12,72	26,1	7,41	15,9	45,2	4,93	90	37,4
2 h	14,82	27,3	7,37	15,5	45,5	4,94	91	34,1
3 h	13,08	26,2	7,34	15,5	50,2	4,82	103	31,0
Dextran ₁ 15%								
0 h	14,25	27,1	7,39	5,6	16,5	1,92	94	33,9
1 h	16,56	28,2	7,38	5,0	14,6	1,57	93	34,3
2 h	17,31	28,4	7,37	5,1	14,3	1,53	93	35,3
3 h	16,62	28,1	7,36	5,0	14,2	1,55	92	35,2
Dextran ₂ 15%								
0 h	15,81	27,7	7,36	5,1	14,3	1,60	89	35,6
1 h	14,46	27,1	7,35	5,3	15,4	1,63	94	34,4
2 h	15,57	27,5	7,35	5,5	15,8	1,66	95	34,8
3 h	13,80	26,6	7,37	5,9	16,7	1,83	92	35,3

Tabelle 13: Versuch 14

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	16,59	28,3	7,49	13,5	40,5	4,35	93	33,4
Plasma 45 %								
0 h	16,41	28,2	7,47	16,1	46,7	4,92	94	34,5
1 h	14,37	27,0	7,41	16,3	45,3	4,92	91	36,0
2 h	13,95	26,8	7,37	16,3	45,6	4,92	92	35,8
3 h	13,44	26,5	7,33	16,1	49,2	4,96	98	32,8
Dextran ₁ 15%								
0 h	14,46	27,2	7,33	5,9	16,1	1,78	91	36,4
1 h	14,44	27,2	7,40	6,1	16,6	1,84	90	36,7
2 h	13,20	26,3	7,37	5,9	16,0	1,75	92	36,8
3 h	13,56	26,6	7,38	5,8	16,2	1,80	90	35,8
Dextran ₂ 15%								
0 h	15,48	27,7	7,33	5,9	16,2	1,79	91	36,4
1 h	15,75	27,8	7,33	5,7	16,0	1,76	91	35,6
2 h	14,42	27,2	7,32	5,9	16,4	1,80	91	35,9
3 h	12,66	26,1	7,32	6,2	17,7	1,92	92	35,0

Nabelschnurblut, äquilibriert mit 24% Sauerstoff

Tabelle 14: Versuch 2; Anteil an fötalem Hämoglobin: 34,2%

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
V3	14,47	22,7	7,44	16,9	49,0	4,53	108	34,6
Plasma 45%								
0 h	12,06	22,1	7,44	15,0	42,0	3,76	104	35,7
1 h	12,33	22,1	7,36	15,3	43,7	4,18	103	35,1
2 h	11,19	21,8	7,37	15,1	44,8	4,26	103	33,8
3 h	9,84	21,3	7,36	15,4	45,1	4,25	104	34,2
Dextran ₁ 15%								
0 h	11,38	21,8	7,35	5,3	13,6	1,71	101	38,9
1 h	10,20	21,5	7,35	5,3	14,1	1,42	98	37,5
2 h	10,05	21,4	7,43	5,2	14,7	1,44	101	35,4
3 h	8,46	21,0	7,41	5,4	14,4	1,44	100	37,5
Dextran ₂ 15%								
0 h	15,27	23,1	7,44	5,5	13,2	1,27	104	41,5
1 h	13,38	22,4	7,36	5,4	15,5	1,50	103	34,8
2 h	12,21	22,1	7,37	5,3	15,3	1,48	104	34,7
3 h	10,74	21,7	7,37	5,9	17,1	1,62	105	34,5

Tabelle 15: Versuch 5; Anteil an fötalem Hämoglobin: 42,3%

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
V8	13,65	22,6	7,36	13,9	40,9	3,54	113	34,1
Plasma 45%								
0 h	13,80	22,6	7,41	15,5	47,8	4,28	109	32,5
1 h	13,29	22,5	7,42	15,5	47,2	4,22	110	32,8
2 h	12,24	22,1	7,39	16,7	46,8	4,29	111	35,7
3 h	12,84	22,3	7,36	15,9	42,8	3,53	108	37,2
Dextran ₁ 15%								
0 h	16,26	23,3	7,41	5,4	16,2	1,46	111	33,3
1 h	14,88	22,9	7,42	5,6	16,4	1,50	109	34,1
2 h	15,39	23,2	7,42	5,3	15,0	1,63	110	35,3
3 h	14,70	22,9	7,39	5,2	13,1	1,18	110	39,6
Dextran ₂ 15%								
0 h	14,47	22,8	7,41	5,6	15,9	1,48	107	35,2
1 h	12,06	22,1	7,38	6,5	16,6	1,55	106	39,1
2 h	11,88	22,0	7,38	6,0	13,6	1,28	106	44,0
3 h	10,38	21,5	7,37	6,4	16,2	1,54	105	39,5

Tabelle 16: Versuch 11; Anteil an fötalem Hämoglobin: 58,6%

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	14,46	22,8	7,46	12,1	36,2	3,15	114	33,4
Plasma 45%								
0 h	13,83	22,6	7,41	16,9	47,6	4,26	111	35,5
1 h	12,78	22,3	7,37	16,5	46,6	4,16	110	35,4
2 h	11,88	22,0	7,35	16,2	47,0	4,08	114	35,5
3 h	9,90	21,4	7,32	16,4	49,1	4,10	118	33,4
Dextran ₁ 15%								
0 h	17,04	23,6	7,40	5,7	16,9	1,53	111	33,7
1 h	16,59	23,4	7,38	5,8	16,8	1,51	112	34,7
2 h	13,59	22,6	7,36	5,8	16,5	1,42	116	35,2
3 h	11,19	21,8	7,34	5,7	16,9	1,48	114	33,7
Dextran ₂ 15%								
0 h	16,71	23,5	7,33	5,6	15,8	1,43	111	35,4
1 h	15,42	23,2	7,34	5,8	16,7	1,48	114	34,8
2 h	13,77	22,6	7,33	5,6	16,1	1,41	115	34,8
3 h	10,47	21,5	7,33	6,1	18,2	1,57	116	37,6

Nabelschnurblut, äquilibriert mit 14,4% Sauerstoff

Tabelle 17: Versuch 12; Anteil an fötalem Hämoglobin: 38,5%

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	12,90	22,4	7,32	16,0	51,5	4,38	116	31,1
Plasma 45%								
0 h	11,97	22,1	7,36	16,7	46,9	4,60	101	35,6
1 h	11,07	21,8	7,34	17,1	51,1	4,75	106	33,4
2 h	9,96	21,4	7,32	16,7	48,8	4,74	102	34,2
3 h	9,27	21,2	7,30	17,2	49,7	4,72	104	34,6
Dextran ₁ 15%								
0 h	15,39	23,1	7,36	5,2	15,8	1,49	106	32,9
1 h	12,27	23,1	7,36	6,2	18,4	1,90	109	33,7
2 h	8,85	21,1	7,34	5,5	15,8	1,41	112	34,8
3 h	11,40	21,9	7,33	5,3	15,7	1,46	108	33,8
Dextran ₂ 15%								
0 h	12,87	22,3	7,32	5,5	15,2	1,47	104	36,2
1 h	13,71	22,7	7,31	5,4	16,0	1,49	107	33,8
2 h	13,23	22,5	7,49	5,4	15,6	1,47	106	34,7
3 h	12,18	22,1	7,52	5,6	16,5	1,54	107	33,9

Tabelle 18: Versuch 15; Anteil an fötalem Hämoglobin: 67,5%

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	19,11	24,3	7,59	12,8	37,6	3,49	106	34,0
Plasma 45%								
0 h	17,97	23,7	7,46	17,2	48,8	4,64	104	35,2
1 h	15,21	23,1	7,39	17,1	52,5	4,60	113	32,6
2 h	14,88	22,9	7,36	17,8	50,4	4,80	104	35,3
3 h	13,68	22,6	7,35	18,6	53,2	4,89	108	35,1
Dextran ₁ 15%								
0 h	21,45	25,1	7,46	5,4	13,7	1,34	101	39,4
1 h	18,09	24,0	7,33	5,7	16,8	1,63	104	33,9
2 h	16,47	23,4	7,31	5,9	16,3	1,54	106	36,2
3 h	15,30	23,1	7,37	5,5	16,2	1,52	107	33,7
Dextran ₂ 15%								
0 h	20,25	24,7	7,45	5,3	14,7	1,40	105	36,0
1 h	17,40	23,7	7,31	5,6	16,3	1,49	109	34,3*
2 h	17,28	23,7	7,31	5,5	14,8	1,44	102	37,1
3 h	13,50	22,6	7,37	5,9	16,1	1,51	107	36,6

Tabelle 19: Versuch 17; Anteil an fötalem Hämoglobin: 51,2%

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	19,83	24,4	7,46	14,8	43,2	3,98	108	34,3
Plasma 45%								
0 h	16,65	23,5	7,40	16,0	46,8	4,42	105	34,2
1 h	15,57	23,2	7,39	16,0	45,8	4,51	100	35,0
2 h	13,80	22,8	7,37	16,8	46,2	4,34	105	36,4
3 h	13,32	22,5	7,33	16,4	46,2	4,56	100	35,5
Dextran ₁ 15%								
0 h	21,30	25,1	7,36	5,0	14,1	1,34	107	35,4
1 h	20,46	24,7	7,48	5,2	15,4	1,46	106	33,8
2 h	18,36	24,1	7,47	5,4	16,7	1,53	109	32,3
3 h	15,99	23,3	7,43	5,3	16,1	1,53	105	32,9
Dextran ₂ 15%								
0 h	21,33	25,1	7,36	5,1	15,3	1,41	109	33,3
1 h	21,24	25,1	7,36	5,1	15,4	1,44	107	33,1
2 h	18,75	24,2	7,33	5,3	15,8	1,48	107	33,6
3 h	17,73	23,9	7,31	5,4	16,3	1,52	108	33,1

Nabelschnurblut, äquilibriert mit 5% Sauerstoff

Tabelle 20: Versuch 8; Anteil an fötalem Hämoglobin: 42,5%

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	14,28	22,8	7,44	11,5	36,0	3,13	114	32,0
Plasma 45%								
0 h	11,46	21,9	7,39	14,7	43,8	3,93	111	33,6
1 h	10,98	21,7	7,37	15,3	46,2	4,14	111	33,2
2 h	11,21	21,8	7,41	14,6	44,4	4,06	109	32,9
3 h	12,26	22,1	7,37	14,5	46,0	4,06	112	31,6
Dextran ₁ 15%								
0 h	14,34	22,8	7,46	4,8	13,4	1,26	106	35,8
1 h	11,91	22,0	7,36	5,6	16,1	1,47	110	34,8
2 h	10,68	21,6	7,43	5,3	15,5	1,44	108	34,2
3 h	11,67	21,9	7,38	5,4	16,1	1,48	109	33,5
Dextran ₂ 15%								
0 h	17,49	23,8	7,49	4,0	11,8	1,09	108	33,8
1 h	13,35	22,5	7,37	4,8	13,4	1,21	112	35,8
2 h	12,33	22,1	7,46	5,0	14,8	1,34	110	33,8
3 h	11,19	21,8	7,44	5,9	17,3	1,56	111	34,1

Tabelle 21: Versuch 9; Anteil an fötalem Hämoglobin: 40,9%

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	13,44	22,5	7,39	13,3	37,9	3,40	110	35,1
Plasma 45%								
0 h	13,29	22,5	7,46	16,7	48,4	4,34	110	34,5
1 h	15,09	23,0	7,35	15,8	47,2	4,40	106	33,2
2 h	14,76	22,9	7,39	16,1	45,5	4,22	107	35,4
3 h	15,06	23,0	7,41	16,3	47,0	4,30	108	34,5
Dextran ₁ 15%								
0 h	15,30	23,1	7,43	6,0	16,3	1,54	106	36,8
1 h	15,48	23,2	7,35	5,9	16,8	1,58	106	35,1
2 h	15,36	23,1	7,35	5,6	16,1	1,52	106	34,8
3 h	13,80	22,6	7,37	6,2	16,9	1,62	104	36,7
Dextran ₂ 15%								
0 h	16,80	23,5	7,37	5,8	15,9	1,47	108	36,4
1 h	18,30	23,1	7,35	5,5	15,9	1,48	107	34,6
2 h	15,84	23,3	7,35	5,6	15,5	1,47	106	36,0
3 h	15,69	23,2	7,37	5,9	17,0	1,56	109	34,7

Tabelle 22: Versuch 10; Anteil an fötalem Hämoglobin: 51,3%

	2,3-DPG uMol/g Hb	P 50 Torr	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	16,65	23,5	7,55	13,9	41,2	3,74	109	33,8
Plasma 45%								
0 h	15,75	23,3	7,37	16,7	49,2	4,64	105	34,0
1 h	14,28	22,8	7,37	16,2	49,1	4,50	108	33,0
2 h	12,45	22,2	7,43	15,9	48,7	4,40	109	32,6
3 h	13,53	22,6	7,41	16,0	46,9	4,34	106	34,1
Dextran ₁ 15%								
0 h	17,58	23,8	7,39	5,3	15,3	1,46	106	34,6
1 h	19,68	24,3	7,43	5,5	17,0	1,62	107	32,3
2 h	18,09	24,0	7,40	5,8	17,7	1,64	108	32,8
3 h	15,09	23,0	7,43	6,4	18,5	1,72	107	34,6
Dextran ₂ 15%								
0 h	18,90	24,3	7,41	4,9	14,2	1,33	106	34,5
1 h	17,74	23,9	7,43	5,3	15,7	1,47	108	33,6
2 h	17,28	23,7	7,40	6,0	17,4	1,61	108	34,4
3 h	18,09	24,0	7,43	6,5	18,9	1,76	107	34,4

Hundeblut, äquilibriert mit 13,9% Sauerstoff

Tabelle 23: Versuch 22

	2,3-DPG uMol/g Hb	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	17,25	7,43	16,5	41,5	5,95	69	39,8
Plasma 45%							
0 h	18,54	7,33	16,4	45,4	5,20	68	36,2
1 h	18,36	7,35	16,7	43,9	6,07	72	38,1
2 h	21,21	7,33	17,1	43,2	6,14	70	39,6
3 h	20,49	7,36	17,1	46,5	6,65	69	36,8
6 h	8,97	7,26	18,1	49,6	7,08	70	36,5
Dextran ₁ 15%							
0 h	23,25	7,18	5,2	13,8	1,94	70	37,6
1 h	24,78	7,36	5,2	14,4	1,87	77	36,1
2 h	24,66	7,40	5,4	18,6	2,11	85	29,1
3 h	23,91	7,44	5,6	17,2	2,26	76	32,6
6 h	11,52	7,35	6,3	19,8	2,46	80	31,8
Dextran ₂ 15%							
0 h	23,70	7,16	5,1	13,7	1,97	69	37,2
1 h	24,69	7,32	5,2	15,3	1,99	76	34,0
2 h	23,52	7,37	4,9	14,3	1,92	74	34,2
3 h	25,23	7,37	4,7	13,8	1,82	75	34,0
6 h	12,66	7,35	4,9	14,7	1,97	75	33,3

Tabelle 24: Versuch 23

	2,3-DPG uMol/g Hb	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	10,47	7,67	16,0	46,5	6,52	71	34,5
Plasma 45%							
0 h	10,44	7,46	17,1	45,5	6,45	70	37,6
1 h	9,87	7,36	16,9	49,1	4,63	73	34,4
2 h	10,65	7,47	17,6	47,1	6,71	69	37,3
3 h	10,59	7,42	17,9	47,6	6,83	69	37,6
6 h	11,91	7,36	17,8	48,3	6,96	69	36,9
Dextran ₁ 15%							
0 h	12,00	7,35	5,4	16,0	2,24	71	33,7
1 h	12,60	7,38	5,6	15,1	2,08	72	37,1
2 h	12,39	7,40	5,2	14,8	2,05	72	35,1
3 h	14,10	7,41	5,1	14,5	2,07	69	35,1
6 h	12,96	7,35	5,1	16,8	2,11	79	30,4
Dextran ₂ 15%							
0 h	13,83	7,35	5,0	14,6	2,06	70	34,2
1 h	12,66	7,38	5,4	15,3	2,01	75	35,2
2 h	12,33	7,41	5,6	16,1	2,20	72	34,7
3 h	13,08	7,38	5,7	16,2	2,26	71	35,2
6 h	13,32	7,32	2,9	8,1	0,95	83	35,9

Tabelle 25: Versuch 24

	2,3-DPG uMol/g Hb	pH	Hb g %	Hk %	Ery	MCV	MCHC g %
VB	11,34	7,50	15,6	46,9	6,46	72	33,3
Plasma 48%							
0 h	12,75	7,48	14,7	44,5	6,04	73	33,0
1 h	14,64	7,40	13,8	40,8	5,63	72	33,8
2 h	23,73	7,38	15,4	46,2	6,18	74	33,4
3 h	24,15	7,34	15,5	43,9	4,72	73	35,4
6 h	22,08	7,40	12,2	36,0	5,09	70	33,9
Dextran ₁ 15%							
0 h	16,56	7,38	4,8	14,2	1,88	74	33,8
1 h	19,50	7,36	4,0	11,6	1,51	76	34,5
2 h	29,85	7,34	5,0	15,4	2,01	75	32,5
3 h	28,05	7,32	4,7	14,4	1,96	72	32,6
6 h	21,66	7,32	5,2	15,5	1,95	67	33,5
Dextran ₂ 15%							
0 h	17,13	7,32	4,7	14,1	1,92	73	33,3
1 h	19,02	7,40	5,0	14,9	1,97	75	33,6
2 h	27,99	7,37	5,2	15,7	2,07	75	33,1
3 h	29,31	7,39	4,6	14,7	1,97	72	31,2
6 h	24,75	7,35	5,9	17,8	2,37	72	33,1

Die Tabellen 26 - 30 geben die Meßergebnisse der in-vivo-Versuche an adulten Hunden wieder (Schockversuche).

Abkürzungen:

2,3-DPG = 2,3-Diphosphoglycerat, gemessen in $\mu\text{Mol/ml}$ Ery

Hk = Hämatokrit in %

Hb = Hämoglobingehalt in g %

MCHC = mittlere corpuskuläre Hämoglobinkonzentration

VE = vor Entnahme

EH = Ende der Hypotoniezeit

10' = 10 Minuten nach Wiederauffüllen des Kreislaufs mit Dextran 60

30' = 30 " " " " " " " "

60' = 60 " " " " " " " "

120' = 120 " " " " " " " "

Tabelle 26:

	2,3-DPG $\mu\text{Mol/g Hb}$	Hk %	Hb g %	MCHC g %
VE	4,56	44,0	14,5	33,0
EH	6,49	30,5	10,2	33,4
10'	6,64	16,0	5,2	33,0
30'	6,40	15,5	5,1	33,0
60'	7,12	19,0	6,2	32,9
120'	6,95	25,0	8,2	33,0

Tabelle 27:

VE	6,54	37,5	12,5	33,4
EH	6,17	30,0	9,9	33,0
10'	7,20	12,5	4,1	33,0
30'	7,62	14,0	4,6	33,0
60'	9,25	14,5	4,8	33,0
120'	7,79	24,0	7,9	33,0

Tabelle 28:

VE	6,56	33,0	10,9	33,0
EH	5,29	29,0	9,6	33,0
10'	7,62	15,5	4,9	32,0
30'	5,59	20,0	6,6	33,0
60'	6,84	22,0	7,3	33,0
120'	7,18	28,0	9,2	33,0

Tabelle 29:

VE	6,11	41,0	13,5	32,9
EH	6,65	40,5	13,3	32,9
10'	6,28	19,0	6,3	33,0
30'	6,76	16,5	5,4	33,0
60'	6,57	16,0	5,3	33,0
120'	6,75	22,5	7,4	33,0

Tabelle 30:

VE	6,81	38,5	12,7	33,0
EH	6,59	29,5	9,7	33,0
10'	7,02	13,0	4,3	33,0
30'	7,05	16,5	5,4	33,0
60'	6,36	15,5	5,1	33,9
120'	3,61	27,0	8,9	33,0

Tabelle 31: sh. Seite 37, Kardiorespiratorische Parameter bei 2 neugeborenen Hunden vor und nach isovolämischer Hämodilution mit Dextran 60

Tabelle 32: Meßergebnisse der Hämodilutionsversuche an neugeborenen Hunden

Abkürzungen:

2,3-DPG = 2,3-Diphosphoglycerat, gemessen in $\mu\text{Mol/g Hb}$

Hb = Hämoglobingehalt in g %

vAT = vor Austauschtransfusion Blut gegen Dextran (= Hämodilution)
 0 h = 0 Stunden nach Ende der Hämodilution
 1 h = 1 " " " " "
 2 h = 2 " " " " "
 3 h = 3 " " " " "
 26 h = 26 " " " " "

Hund:	I		II		III		IV		V	
	DPG	Hb	DPG	Hb	DPG	Hb	DPG	Hb	DPG	Hb
vAT	4,90	14,5	5,82	10,9	5,17	10,8	4,5	12,6	6,6	12,7
0 h	4,0	3,9	5,20	4,3	3,56	7,2	7,2	5,3	7,5	4,6
1 h	2,82	2,5	9,22	5,7	6,41	6,0	7,5	5,3	8,25	4,5
2 h	2,11	2,5	7,69	5,6	7,02	5,2	8,25	5,3	6,9	4,2
3 h	-	-	12,1	7,8	-	-	8,10	5,0	7,95	3,7
26 h	-	-	-	-	3,9	6,5	7,2	4,7	-	-

J Literaturverzeichnis

1. Walker, C.H.M., and T.F. Mackintosh:
The treatment of hyperviscosity syndroms of the newborn with hemodilution.
Hemodilution. Theoretical Basis and Clinical Application. Karger, Basel (1972), p. 271
2. Ditzel, J.: Hemodilution in myocardial infarction.
Hemodilution. Theoretical Basis and Clinical Application. Karger, Basel (1972), p. 264
3. Gottstein, U., K. Held and I. Sedlmeyer;
Cerebral and periphal blood flow as affected by induced hemodilution.
Hemodilution. Theoretical Basis and Clinical Application. Karger, Basel (1972), p. 247
4. Messmer, K., L. Sunder-Plassmann, K. Holper und W.P. Klövekorn:
Möglichkeiten und Grenzen therapeutischer Hämodilution.
Dextran Symposium Krems/Österreich, (1969)
5. Sunder-Plassmann, L., W.P. Klövekorn und K. Messmer:
Blutviskosität und Hämodynamik bei Anwendung kolloidaler Volumenersatzmittel.
Anaesthesist 20, (1971), p. 853
6. Sunder-Plassmann, L., W.P. Klövekorn, K. Holper and K. Messmer:
The physiological significance of acutely induced hemodilution.
6th Europ. Conf. Microcirculation, Aalborg 1970,
Karger, Basel (1971), p. 23

7. Knorpp, K., Ch. Bauer, A.-M. Rathschlag-Schaefer und H. Bartels:
Einfluß von Plasmaersatzlösungen auf die Atmungs-
funktion des Blutes beim hämorrhagischen Schock
des wachen Kaninchens.
Arzneim.-Forsch. 20 (1970), p. 853
8. Benesch, R. and R. E. Benesch:
The effect of organic phosphates from the human
erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 26 (1967), p. 162
9. Chanutin, A. and R. R. Curnish:
Effect of organic and inorganic phosphates on the
oxygen equilibrium of human erythrocytes.
Arch. Biochem. Biophys. 121 (1967), p. 96
10. Oski, F.A. and M. Delivoria-Papadopoulos:
The red cell, 2,3-diphosphoglycerate and tissue
oxygen release.
J. Pediat. 77 (1970), p. 941
11. Bunn, H. F. and R. W. Briehl:
The interaction of 2,3-diphosphoglycerate with
various human hemoglobins.
J. Clin. Invest. 49 (1970), p. 1088
12. M. F. Perutz:
Stereochemistry of cooperative effects in hemoglobin.
Nature Vol. 228 (1970), pp. 726 - 739
13. Oski, F. A., W. Miller, M. Delivoria-Papadopoulos and A. J. Gottlieb:
The effects of deoxygenation of adult and fetal
hemoglobin on the synthesis of red cell 2,3-diphospho-
glycerate and its vivo consequences.
J. Clin. Invest. 49 (1970), p. 400
14. Oski, F. A., A. J. Gottlieb, M. Delivoria-Papadopoulos and W.W.Miller:
Red cell 2,3-diphosphoglycerate levels in subjects with
chronic hypoxemia.
New Eng. J. Med. 200 (1969), p. 1165

15. Torrance, J., P. Jacobs, A. Restrepo, J. Eschbach,
C. Lenfant and C. Finch:
Intraerythrocytic adaption to anemia.
New Eng. J. Med. 283 (1970), p. 165
16. Lenfant, C., P. Jacobs, E. English, C.A. Finch,
C. Reynafarje, J. Ramos, J. Faura:
Effect of altitude on oxygen binding by hemoglobin .
and on organic phosphate levels.
J. Clin. Invest. 47 (1968), p. 2652
17. de Verdier, C. H. and L. Garby:
Low binding of 2,3-diphosphoglycerate to
hemoglobin F.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 23 (1969), p. 149
18. Bauer, C., I. Ludwig and M. Ludwig:
Different effects of 2,3-diphosphoglycerate on
oxygen affinity of adult and fetal human hemoglobin.
Life Sci. 7 (1968), p. 1339
19. Tyuma, I. and K. Shimizu:
Different responses to organic phosphates of
human fetal and adult hemoglobin.
Arch. Biochem. 129 (1969), p. 404
20. Bücher, T., W. Luh und D. Pette:
Einfache und zusammengesetzte optische Tests an
Pyridinnukleotiden.
Handb. Physiol. Path. Chem. Analyse 10. Auflage,
Vol. VI A Springer, Berlin (1964), p. 292
21. Seifert, H.: Fetales Hämoglobin und 2,3-Diphosphoglycerat als
determinierende Faktoren der Sauerstoff-Transport-
funktion des Blutes im ersten Lebensjahr.
Inaugural-Dissertation, München (1972)

22. Olbrich, G.: In vitro Experimente und in vivo Messungen der Hämoglobin-Sauerstoff-Transportfunktion bei Hämodilution.
Inaugural-Dissertation, München (1974)
23. Versmold, H., G. Seifert and P. Riegel:
Blood oxygen affinity in infancy: the interaction of fetal and adult hemoglobin, oxygen capacity, and red cell hydrogen ion and 2,3-diphosphoglycerate concentration.
Resp. Physiol. 18 (1973), p. 14
24. Betke, K., H. R. Marti and I. Schlicht:
Estimation of small percentages of fetal hemoglobin.
Nature 184 (1959), p. 1877

Danksagung

Hiermit möchte ich allen, die mir bei der Erstellung dieser Arbeit geholfen haben, meinen Dank aussprechen:

Herrn Priv.-Doz. Dr. Messmer, Herrn Dr. Sunder Plassmann und Herrn Dr. Jesch für die Durchführung der in vivo Versuche an adulten Hunden;

Herrn Dr. E. Hollmann für die Durchführung der in vivo Versuche an neugeborenen Hunden;

Herrn Prof. Dr. Rudolf Fickentscher, ehem. Dir. der II. Univ. Frauenklinik für die Überlassung der Nabelschnurblutproben;

Fräulein Heidi Windthorst für ihre Mithilfe bei den enzymatischen Messungen;

Fräulein Doris Leb und ihren Kolleginnen für die Messungen am Coulter Counter;

sowie allen, die Blut gespendet haben.

Lebenslauf

- 16.6.1949 Geburt in München als Sohn von Helga Wefelscheid,
geb. Krajowsky, und Dr. Hans Wefelscheid, Arzt;
2 Brüder, geb. 1947 und 1955
- 1954 Übersiedelung nach Bad Tölz
- Sept. 1955 Eintritt in die ev. Volksschule Bad Tölz
- Sept. 1959 Übertritt an die Oberrealschule Bad Tölz, später
Gymnasium Bad Tölz, nat. wiss. Zweig
- Juni 1968 Abitur
- Okt. 1968 Zulassung zum Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-
Universität München
- Sept. 1969 Vorphysikum
- März 1971 Physikum

München, im Februar 1974

Hans Werner Wefelscheid

